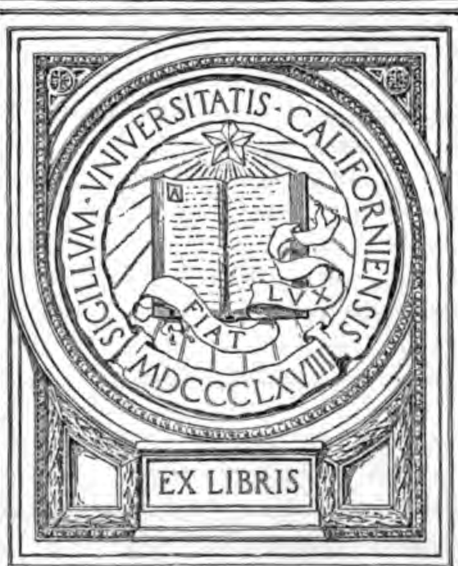



SIGILLVM · VNIVERSITATIS · CALIFORNIENSIS
FIAT LVX
MDCCCLXVIII
EX LIBRIS

ARCHIV
FÜR
EXPERIMENTELLE PATHOLOGIE
UND
PHARMAKOLOGIE

HERAUSGEGEBEN VON

REDIGIRT VON

Dr. B. NAUNYN UND **Dr. O. SCHMIEDEBERG**

PROF. EMER. DER UNIV. STRASSBURG
BADEN-BADEN

PROF. DER PHARMAKOLOGIE
STRASSBURG I. E.

ACHTUNDFÜNFZIGSTER BAND.

MIT 1 ABBILDUNG UND 36 CURVEN IM TEXT UND 4 TAFELN.



LEIPZIG,
VERLAG VON F. C. W. VOGEL.
1908.

Inhalt des achtundfünfzigsten Bandes.

Erstes und zweites Heft

(ausgegeben am 18. Dezember 1907).

Drittes und viertes Heft

(ausgegeben am 9. März 1908).

Fünftes und sechstes Heft

(ausgegeben am 28. April 1908).

I.

Aus dem pharmakologischen Institut der Universität Würzburg.

Curarestudien.[1]

I. Die periphere Wirkung des Guanidins.

Von

Hermann Fühner.

(Mit 12 Kurven).

Inhaltsübersicht.

Zwei Hauptpunkte waren es, welche, fast seitdem eine „Curarefrage" für die Pharmakologie existiert, diskutiert wurden: Der Angriffsort der typischen Curarewirkung und der Zusammenhang zwischen Konstitution und Wirkung bei Produkten mit Curarewirkung.

Wurde seit Claude Bernard und Kölliker die motorische Nervenendigung zwar allgemein als Prädilektionsstelle der Wirkung des Curarins angesehen, so hatte doch schon Kölliker[2]) selbst betont, es sei nicht bewiesen, „daß das Pfeilgift alle Nerven inner-

1) Auf Veranlassung von Herrn Geheimrat Meyer habe ich eine Bearbeitung der „Curarefrage" im pharmakologischen Institut zu Wien begonnen. Eine noch nicht abgeschlossene Untersuchung über Farbstoffe mit Curarewirkung erscheint später. Die hier wiedergegebene Arbeit über die periphere Wirkung des Guanidins ist im pharmakologischen Institut der Universität Würzburg ausgeführt.

2) A. Kölliker, Physiologische Untersuchung über die Wirkung einiger Gifte. (Separatabdr. aus Virchows Archiv. Bd. 10, 1856.) S. 55.

halb der Muskeln" lähmt und W. Kühne[1]) sprach auf Grund seiner Untersuchungen an Froschsartorien die Überzeugung aus, „daß die letzten Enden der intermuskularen Nerven" von der Wirkung des Curarins verschont bleiben. Zu derselben Ansicht, daß der curarisierte Muskel keineswegs entnervt sei, gelangten neuerdings A. Herzen und auch J. Ioteyko[2]).

Seither ist durch Arbeiten von J. N. Langley[3]) die Curarefrage in ein neues Stadium getreten. Sich stützend auf Versuche über den Antagonismus von Nikotin und Curare verlegt Langley den Angriffspunkt des Curarins in die Muskelsubstanz selbst und „as the ascertained action of the poisons on muscle is sufficient to explain their paralysing action, it is unnecessary to resort to the assumption of an additional effect on nerve endings."

Zur Beantwortung der Frage nach dem Angriffsort der Curarewirkung wurden m. W. bisher nur Curare und Curarepräparate verwandt. Ist dieser Weg der nächstliegende, so ist er doch nicht der einzige und, wie mir scheint, auch nicht der beste.

Die Wirkung des Curarins ist eine lähmende, am isolierten Nervmuskelpräparat nicht unmittelbar sinnfällige. Das Vorhandensein seiner Wirkung muß erst durch ein weiteres Hilfsmittel, durch mechanische, chemische oder elektrische Reizung sichtbar gemacht werden. Hätte das Curarin vor seiner lähmenden eine erregende Wirkung, welche erst allmählich in Lähmung überginge, so wäre die Frage nach seinem Wirkungsorte ohne Einführung eines zweiten die Beurteilung komplizierenden Faktors, direkt zu beantworten. Während dem Curarin eine peripher erregende Wirkung vollkommen zu fehlen scheint, kennen wir eine ganze Anzahl Produkte, welche neben der peripher lähmenden eine erregende Wirkung besitzen. Die bekanntesten sind das von L. Dufaux[4]) und später von A. Jodlbauer[5]) untersuchte Tetramethylammoniumchlorid, dann

---

1) W. Kühne, Myologische Untersuchungen. Leipzig 1860, S. 43 und W. Kühne, Über die Wirkung des amerikanischen Pfeilgiftes. Arch. für Anat. und Physiol. 1860, S. 494.

2) H. Meyer, Nerv- und Muskelgifte. Ergebnisse d. Physiol. I, II, (1902) S. 200.

3) J. N. Langley, On Nerve Endings and on Special Excitable Substances in Cells. Croonian Lecture, 1906. Proc. of the Roy. Soc. B. vol. 78. p. 181 und ferner: On the Reaction of Cells and of Nerve Endings to certain Poisons etc. Journal of Physiology, vol. 33 (1905), p. 374.

4) L. Dufaux, Über die Wirkung d. Tetramethylammoniumchlorid. Diss. Berlin 1888.

5) A. Jodlbauer, Über d. Wirkung d. Tetramethylammoniumchlorid. Arch. intern. de Pharmacodyn. et de Thér. vol. 7 (1900) S. 183.

namentlich das von C. Jacobj und J. Hagenberg[1]) geprüfte Tetraäthylammoniumjodid, bei welchem Curarelähmung am Frosch, erst sehr spät (nach 1—2 Stunden) und nach großen Dosen in die Erscheinung tritt und endlich das Hexamminkobaltchlorid, bei dem J. Bock[2]) die peripher erregende Wirkung nach voraufgegangener Curarelähmung beobachtete. Diesen Substanzen schließt sich das Guanidin an, welches bekanntlich nach Gergens und Baumann[3]) sehr stark peripher erregend wirkt, und bei welchem ich, nach großen Dosen, Curarelähmung feststellen konnte[4]).

Nach dem Gesagten schien es mir möglich, den Angriffsort eines der genannten Produkte mit positiver erregender Wirkung welche in die lähmende übergeht, einwandfreier zu bestimmen, als dies bei dem nur lähmende negative Wirkung besitzenden Curarin bisher geschah. Ich wählte zu meiner Untersuchung das physiologisch wichtige Guanidin und glaube, daß die an diesem festgestellten Tatsachen auch Rückschlüsse auf den Angriffsort des Curarins gestatten.

Bei einer Betrachtung der Beziehungen zwischen Konstitution und Curarewirkung wurden bisher hauptsächlich die quartären Ammoniumverbindungen berücksichtigt. Seit Crum Brown und Fraser[5]) entdeckt haben, daß durch Addition von Jodmethyl die verschiedensten Alkaloide gleichförmige Curarewirkung bekommen, hatte man nach einer Erklärung für diese Tatsache gesucht und namentlich die quartäre Bindung des Stickstoffs an Kohlenstoff für wesentlich zum Zustandekommen der Curarewirkung angesehen.[6]) Neuerdings hat S. Fränkel[7]) versucht, durch Heranziehen der stereochemischen Konfiguration der hierhergehörigen Verbindungen ein Verständnis für ihre Wirkung anzubahnen.

Im Gegensatz zu diesem Versuch bringt Hans Meyer[8]) die

1) C. Jacobj u. J. Hagenberg, Über d. Wirkung d. Tetramethyl- und Aethylammoniumjodide. Dieses Arch. 48 (1902) S. 58.

2) J. Bock, Ueber die Wirkung d. Kobalt . . . . Verbindungen a. d. tier. Organismus. Dieses Arch. 52 (1905) S. 6.

3) E. Gergens und E. Baumann, Ueber das Verhalten des Guanidin, Dicyandiamidin und Cyanamid im Organismus. Pflügers Arch. 12 (1876) S. 205.

4) H. Fühner, Ueber organische Ionenwirkungen, speziell d. Guanidins. Zentralbl. f. Physiol. 20 (1906) S. 838.

5) A. Crum Brown and Th. Fraser, On the Connection between Chemica. Constitution and Physiological Action. Transact. of the Roy. Soc. of Edinburgh. vol. 25 (1868).

6) Literaturangaben bei S. Fränkel, Arzneimittelsynthese, 2. Aufl. Berlin 1906. S. 295—302.

7) S. Fränkel, Stereochemische Konfiguration und physiologische Wirkung. Ergebn. d. Physiol. 3, I (1904) S. 307.

8) H. Meyer l. c.

Curarewirkung mit der basischen Stärke der in Betracht kommenden Substanzen in Zusammenhang und der heuristische Wert dieses Gedankens und seine Überlegenheit andern Erklärungsversuchen gegenüber erhellt sofort, wenn man von H. Meyer noch nicht berücksichtigte Produkte, wie das Betain, die Metallammoniake und namentlich auch das Guanidin in den Kreis der Betrachtung zieht. Ich komme auf diesen Gegenstand weiter unten zurück.

I. Chemisches über das Guanidin.

Das Guanidin, der Imidoharnstoff ($NH = C = (NH_2)_2$), und das Methylguanidin, die als Bestandteile von Kreatin (Methylguanidinessigsäure) und Arginin (Guanidinaminovaleriansäure) wichtig erscheinen, sind neuerdings wieder in den Vordergrund physiologischen Interesses gerückt durch die Auffindung des Methylguanidins im Harne von Fleisch- und Pflanzenfressern durch Achelis [1]). Diese Beobachtung führt zu erneuter Diskussion der Frage, ob das Guanidin und sein Methylderivat als Abbauprodukte des Kreatins oder als Bausteine zu einer Kreatinsynthese im Organismus zu betrachten sind [2]). Vor kurzem hat Kutscher [3]), unter dem die Arbeit von Achelis ausgeführt wurde, ein neues, „Vitiatin" genanntes Harnprodukt isoliert, das nach seiner Meinung aus einem Guanidin- und einem Methylguanidinrest besteht, welche durch zwei Methylengruppen zusammengehalten werden. Schon seit langem ist das Auftreten von Methylguanidin bei der Eiweißfäulnis bekannt. (Brieger). Das Guanidin zeigt ferner Beziehungen zu dem im Tierreich sehr verbreiteten Guanin (2-Amino-6-Oxypurin), aus welchem es durch oxydative Spaltung gewonnen werden kann. Auch im Pflanzenreiche kommt es vor und wurde aus dem Saft der Zuckerrüben isoliert. Diese Tatsachen sprechen für eine weitgehende biologische Bedeutung des Guanidins.

Wie Pommerrenig [4]) feststellte, wird das Guanidin bei Digestion mit tierischen Organen nicht angegriffen und vom Tierkörper sowohl bei subkutaner als stomachaler Applikation unverändert im

---

1) W. Achelis, Ueber d. Vorkommen von Methylguanidin im Harn. Zeitschrift f. physiol. Chem. 50 (1906/07) S. 10.

2) Literatur hierüber s. bei M. Jaffé, Untersuchungen üb. d. Entstehung d. Kreatins im Organismus. Ztschr. f. physiol. Chem. 48 (1906) S. 430.

3) Fr. Kutscher, Der Nachweis toxischer Basen im Harn. Ztschr. f. physiol. Chem. 51 (1907) S. 462.

4) E. Pommerrenig, Ueber Guanidinzersetzung im Tierkörper. Hofmeisters Beiträge 1 (1902) S. 561.

Harn der Versuchstiere ausgeschieden. Während dieser Autor kleine unschädliche Guanidinmengen quantitativ im Harn wieder auffand, konnte er bei toxischen Dosen nur einen Teil der Substanz aus demselben wiedergewinnen, eine Beobachtung, welche noch der Aufklärung bedarf.

Das Guanidin zerfällt durch Alkalien relativ leicht, unter Aufnahme der Bestandteile des Wassers, in Harnstoff und Ammoniak. Die auffallendste Veränderung, welche der Harnstoff mit der Substitution seines Sauerstoffs durch die Imidogruppe erfährt, ist die außerordentliche Zunahme seiner Basizität. Während dieser selbst kaum noch basische Eigenschaften besitzt, ist das Guanidin eine der stärksten organischen Basen und steht nach den Bestimmungen von Bredig[1]) zwischen Tetramethyl- und -äthylammoniumhydroxyd, welche bekanntlich Kali und Natron an basischer Stärke nahezu gleichkommen. Entsprechend verhalten sich die Salze des Guanidins chemisch auch wie die Alkalisalze und ihre Eigenschaften werden am besten verständlich, wenn man, nach dem Vorgange von Ostwald, das Guanidin in wässeriger Lösung als einsäurige Ammoniumbase mit fünfwertigem Stickstoff auffaßt, als Guanidiniumhydroxyd[2]).

Interessant ist, daß das Natrium- und Guanidiniumion genau dieselbe Wanderungsgeschwindigkeit[3]) und demgemäß äquimolekulare Lösungen derNatrium- u. Guanidinsalze dieselbe Leitfähigkeit besitzen.

II. Die erregende Wirkung des Guanidins.

Es ist eine große Anzahl Substanzen bekannt, welche peripher erregend wirken und sogenannte fibrilläre Muskelzuckungen erzeugen können. Ich nenne hier von Alkaloiden Akonitin, Nikotin und Physostigmin, dann die Salze der Metalle Baryum, Zink, Kupfer, Nickel, Blei und Wismut und endlich die Salze des Natriums, und von diesen namentlich Tartrat, Citrat und Perchlorat. Keine der genannten Substanzen besitzt aber die erwähnte Eigenschaft in so hohem Maße, wie das Guanidin, und das nach Gergens und Baumann ebenso wirkende Methylguanidin.[4])

---

1) G. Bredig, Ueber die Affinitätsgrößen der Basen. Ztschr. f. physikal. Chem. 13 (1894) S. 299. Vgl. ferner die Tabelle in F. Kohlrausch u. L. Holborn, Das Leitvermögen d. Elektrolyte. Leipzig 1898. S. 194

2) H. Großmann und B. Schück, Zur Kenntnis d. Guanidincarbonats Chem. Ztg. 30 (1906) S. 1205.

3) G. Bredig, Beiträge z. Stöchiometrie der Ionenbeweglichkeit. Ztschr. f. physikal Chem. 13 (1894) S. 191. Tab. S. 228.

4) Wichtig erschien mir, zu untersuchen, ob isolierte Muskeln in Lösungen von Kreatin, das bekanntlich aus der Vereinigung von einem Molekül Methyl-

Wie schon Gergens und Baumann und nach ihnen Putzeys und Swaen[1]) betont haben, sind die eigentümlichen Zuckungen, welche das Guanidin an Fröschen hervorruft, peripherer Natur. Sie persistieren am abgeschnittenen Bein, und werden durch Curare unterdrückt. „Die Art der Bewegungen, die unabhängig von einander nur einzelne Bündel[2]) ein- und desselben Muskels zugleich betreffen, spricht für eine Einwirkung auf die intramuskulären Verästelungen (der Nerven), wenn nicht auf die Endapparate selbst.“[3]).

Gergens und Baumann haben auch schon beobachtet, daß ausgeschnittene Froschmuskeln oder abgeschnittene Extremitäten in Guanidin-Kochsalzlösung die charakteristischen Zuckungen bekommen, welche bis zu zwanzig Stunden anhalten können.

Ich habe meine eigenen Versuche, wo nicht anders angegeben, mit salzsaurem Guanidin (Guanidiniumchlorid) angestellt, welches von C. A. F. Kahlbaum in Berlin bezogen wurde. Die Lösungen dieses Präparates in dest. Wasser reagieren sauer und wurden vor ihrer Verwendung genau gegen Lackmus neutralisiert. Zur Neutralisierung waren für 1 g des Salzes 2—3 Tropfen einer zehnprozentigen Lösung von kryst. Natriumcarbonat nötig. Die neutralen Lösungen wurden filtriert und in der Kälte aufbewahrt. Nach einigen Tagen wurden die neutral nicht sehr haltbaren Lösungen erneuert.

Die Guanidinlösung, einem Frosche unter die Haut gebracht, dringt recht langsam in den Lymphsäcken weiter, was sich gut in folgender Weise demonstrieren läßt: Injiziert man einer sitzenden oder in Bauchlage fixierten Rana esculenta von etwa 50 g Gewicht von einem Unterschenkel aus unter der Haut durchstechend, 1 ccm einer einprozentigen Guanidiniumchloridlösung in den Oberschenkellymphsack, so beginnen nach einigen Minuten die Zehen dieses Beines und die Oberschenkelmuskeln zu zucken; bald beobachtet man auch schon Zuckungen in der Hüftbeuge. Allmählich treten

---

guanidin und Essigsäure besteht, noch Guanidinzuckungen zeigen. Ich stellte Lösungen des Präparates in Ringerlösung im Verhältnis 1 : 200, 1 : 500 und 1 : 1000 her. Im Verlauf von einer Stunde zeigten hierin eingelegte Froschmuskeln keine Zuckungen. Nachher in Guanidinlösung übertragen zuckten sie in normaler Weise. Wohl ebenso wenig, wie das Kreatin (Methylguanidinessigsäure) wird das Glykocyamin (Guanidinessigsäure) die Guanidinwirkung besitzen.

1) F. Putzeys und A. Swaen, Ueber die physiologische Wirkung des schwefels. Guanidin. Pflügers Arch. 12 (1876) S. 597.

2) Dementsprechend ist von J. Rothberger in seiner Arbeit: Weitere Mitteilungen über Antagonisten d. Curarins, Pflügers Arch. 92 (1902) S. 413 von „fasciculären“ und nicht von „fibrillären“ Zuckungen gesprochen.

3) Gergens und Baumann l. c. S. 211.

die Zuckungen, welche nach Verlauf von zehn Minuten in Oberschenkel und Hüftgegend sehr lebhaft geworden sind, weiter oben in der Flankengegend und den Rückenmuskeln auf. Man kann derart leicht Frösche erhalten, welche die Guanidinzuckungen, namentlich die eigentümlich wogende Atmung, nur auf der einen Körperhälfte zeigen. Bei weiterem Aufsteigen ergreifen die Zuckungen Vorderbeine und Augenmuskulatur beiderseits rasch nach einander, gehen dann auf die zweite Flanke über und hinab zum Oberschenkel und Fuß. Es dauert bei fixierten Esculenten 20 bis 30 Minuten, bis die Zuckungen im zweiten Fuß erscheinen. Zerstörung der Lymphherzen ändert nichts in dem Vordringen der Guanidinlösung. Bei Rana fusca (temporaria) griffen von Anfang an die Zuckungen leichter auf die zweite Körperhälfte über. (Versuche vom Februar 1907. Zimmertemperatur 18°.)

Die Guanidinzuckungen sind bei Rana esculenta und fusca etwas verschieden. Die durch Guanidin hervorgerufene wogende Atmung läßt sich an Rana esculenta besser als an Rana fusca beobachten.

Die Guanidinzuckungen können am isolierten in der Guanidinlösung suspendierten Froschmuskel leicht graphisch registriert werden, doch darf die Belastung, namentlich für schwache Guanidinlösungen, keine hohe sein. Ich verwandte bei meinen Versuchen meist eine solche von 20—30 g an der Achse des zweiarmigen Schreibhebels. Bei dem in Fig. 1 und 2 z. T. wiedergegebenen Versuche gebrauchte ich allerdings eine Achsenbelastung [1]) von 110 g. Die Konzentration der Guanidinlösung war hier auch eine hohe, nämlich 1 Teil salzsaures Guanidin auf 1000 Teile Ringerlösung. Bei diesem Versuche vom 29. Jan. 1907 begannen die Guanidinzuckungen (Fig. 1) vier Minuten, nachdem der Muskel aus Ringerlösung in die Guanidinlösung verbracht worden war. Die anfangs vereinzelten schwachen Kontraktionen, welche immer erst von einer gewissen Intensität an zur Aufzeichnung kommen, wurden bald häufiger und stärker und behielten dann etwa fünf Minuten lang maximale Stärke bei. Allmählich wurden sie kleiner und verschwanden nahezu vollständig. Nach ungefähr zwanzig Minuten wurde der nur noch minimale Zuckungen zeigende Muskel in Ringerlösung übertragen. In dieser wurden die Zuckungen im Verlaufe der ersten Minute von neuem maximal (Fig. 2) und sanken dann langsam wieder ab. Die Guanidinzuckungen, welche in starken Lösungen nur kurze Zeit anhalten, können also durch Verbringen des Guanidinmuskels in Ringerlösung wieder her-

1) Die als „Achsenbelastung" angegebenen Gewichtsmengen griffen in allen Versuchen mit einem Hebelarm von 3 mm Länge an der Achse an.

so bekommt er abermals sehr starke Zuckungen. Diese treten auch in einer feuchten Kammer und auch am unbelasteten Muskel auf und verschwinden beim Zurückbringen des Muskels in Ringerlösung rasch wieder. Daß das Auftreten dieser starken Zuckungen an der Luft allein durch Wasserabgabe und Zunahme der Guanidinkonzentration an der Oberfläche des Muskels erklärt werden kann, glaube ich nicht.[1])

In schwächeren Lösungen des Guanidinsalzes (1 : 2000—4000) und geringerer Belastung an der Achse beobachtet man ein periodenweises Auftreten der Guanidinzuckungen. Die Zuckungshöhe der einzelnen Perioden, welche durch Pausen von einer bis zehn Minuten von einander getrennt sind, ist anfangs niedrig und erreicht dreißig bis vierzig Minuten nach Einbringen des Muskels in die Lösung maximale Werte. Mit der Zunahme der Frequenz der Zuckungen steigt deren Höhe durch Superposition von Einzelzuckungen an (Fig. 3). Während Superposition und Tendenz zur Bildung eines unvollständigen Tetanus aus Fig. 3 deutlich zu ersehen ist, habe ich in Guanidinlösungen nie eine derartige Frequenzsteigerung der Zuckungen beobachtet, daß eine vollständige Verschmelzung der mechanischen Effekte (Tetanus) erfolgte, wie sie z. B. bei Nervenreizung durch hyperisotonische Kochsalzlösungen (Fig. 4) auftritt. An schwächeren und weniger frequenten Zuckungen, wie sie namentlich nach längerem Verweilen des Muskels in den Guanidinlösungen zu sehen sind, ist eine gewisse Regelmäßigkeit derselben nicht zu verkennen. Sie erinnern dann an die „rhythmischen Zuckungen" der Muskeln in isotonischer Kochsalzlösung. Eine Periode solch regelmäßiger Zuckungen ist im zweiten Teil der Fig. 5 aufgezeichnet.

Vergleichende Versuche über die Wirkungsintensität von Guanidinlösungen machte ich an Gastrocnemien und Sartorien von Rana esculenta, Rana fusca und Bufo vulgaris, und außerdem an abgeschnittenen und abgehäuteten Füßen, an welchen Guanidinzuckungen in sehr eindrucksvoller Weise auftreten.

Zu diesen Versuchen wurde das salzsaure Guanidin 1 : 100 in destill. Wasser gelöst (diese Lösung ist mit einer 0,7 prozentigen Kochsalzlösung nahezu isosmotisch. Vgl. S. 12.) neutralisiert und diese Lösung mit Ringerlösung weiter verdünnt.

Für das Zustandekommen der Guanidinzuckungen gibt es Konzentrationsoptima, und zwar sind diese für die verschiedenen Muskelsorten etwas verschieden und mehr noch für die verschiedenen

1) Das Auftreten von Zuckungen an der Luft erinnert an J. Loebs „Contact irritability". Zur Kritik dieser Erscheinung vergl. v. Frey in Nagels Handbuch der Physiologie IV (1907), S. 507.



Fig. 3. R. fusca. Muskelzuckungen in Guanidiniumchlorid 1:1000. Achsenbel. 20 g. Hebelvergr. 5fach. Zeitmark. 1. Sek. (17. V. 07.)



Fig. 4. R. fusca. Nerv-Muskelpräparat. Nerv in 5% NaCl-lösg. Zeitmark. 1. Sek. (14. III. 07).

Froscharten. Ich beobachtete an Gastrocnemien von Rana fusca Zuckungen in Verdünnungen bei denen solche von Rana esculenta



Fig. 5. R. fusca. „Rhythmische Zuckungen“ in Guanidiniumchlorid 1 : 2000. Achsenbel. 50 g. Zeitmark. 1. Sek. (30. I. 07).

erst sehr spät und die von Bufo im Verlauf der Beobachtungszeit überhaupt nicht zuckten. Diese Grenze liegt etwa bei 1 : 15—20000. Zur Illustration des Gesagten diene Versuch 1.

Versuch 1. Vergleichung von Rana escul. und Bufo vulg.

7. VI. 07. Rana escul. und Bufo vulg. je ungefähr 50 g wiegend; Gastrocnemien ohne Knochenansatz präpariert und in je 50 ccm folgender Lösungen eingelegt: I. Guanidiniumchlorid 1 : 5000, II. dto. 1 : 10000. Temp. d. Lös. 19°.

4.20. Muskeln von Bufo eingelegt.

4.38. Muskel von Bufo in I zuckt. (Nach 18 Minuten.)

5.04. Muskeln von Rana escul. eingelegt.

5.19. Muskel von Escul. in I zuckt. (Nach 15 Minuten.)

5.28. Muskel von Escul. in II zuckt. (Nach 24 Minuten.)

5.30. Muskel von Bufo in II hat bisher (70 Minuten) nicht gezuckt.

In anderen Versuchen habe ich Zuckungen der Muskeln von Bufo noch in Lösungen 1 : 10000 beobachtet. Doch treten dieselben sehr verspätet auf.

Ich habe immer gefunden, daß Sartorien später in den Guanidinlösungen zucken, als Gastrocnemien, während die Fußmuskeln sich verschieden verhalten. In Versuch 2 ist das verschiedene Verhalten der erstgenannten Muskeln deutlich zu erkennen.

Versuch 2. Verschiedenes Verhalten von Gastrocnemien und Sartorien.

25. I. 07. Rana fusca. Gewicht ungefähr 40 g. Lösungen von Guanidiniumchlorid 1 : 5000 und 1 : 10000. Muskeln ohne Ansätze präpariert. In Schalen mit 25 ccm Flüssigkeit eingelegt. Lufttemp. 19°, Flüssigkeit 18°.

4.58. Je ein Sartorius und ein Gastrocnemius in GCl. 1 : 10000 eingelegt.

4.59. do. in GCl. 1 : 5000 eingelegt.

5.09. Gastrocnemius in GCl. 1 : 5000 beginnt zu zucken. (Nach 10 Minuten.)

5.12. Gastrocnemius in GCl. 1:10 000 zuckt. (Nach 14 Minuten.)
5.28. Sartorius zuckt in GCl. 1:5000. (Nach 29 Minuten.)
5.55. Sartorius, welcher bisher (in 57 Minuten) in GCl. 1:10 000 nicht gezuckt hat, in GCl. 1:5000 umgelegt.
5.58. Der umgelegte Sartorius zuckt.

Lösungen 1:10000 sind für Sartorien schon sehr schwach und auch in 1:5000 zucken dieselben spät. In Lösungen 1:1000 bis 1:2000 zucken dieselben regelmäßig in 10—15 Minuten.

Optimale Zuckungen erhält man in Guanidiniumchloridlösungen von 1:2000 bis 1:5000. Hierbei eignen sich schwächere Lösungen besser für Temporarien- die stärkeren für Eskulenten- und Bufomuskeln. Temporarienmuskeln „ermüden" in Lösungen 1:1000 rasch und zeigen bald keine Zuckungen mehr, während Muskeln von Bufo darin stundenlang zucken können. Eskulentenmuskeln stehen auch hier wieder in der Mitte, zwischen den genannten.

Mit ansteigender Konzentration der Lösungen nehmen die Guanidinzuckungen an Zahl und Intensität mehr und mehr ab. In der Lösung von 1,1 g Guanidiniumchlorid in 100 ccm dest. Wasser, welche äquimolekular und isotonisch mit einer 0,7 prozentigen Kochsalzlösung ist, habe ich an Sartorien nie, an Gastrocnemien keine oder sehr verspätete und an Fußmuskeln gewöhnlich Zuckungen auftreten sehen. Minimal bleiben auch die Zuckungen in der hyperisotonischen Lösung von 1,1 g Guanidinsalz in 100 ccm Ringerlösung. In Versuch 3 sind diese starken Lösungen mit einer schwächeren verglichen.

Versuch 3. Vergleichung starker und schwächerer Guanidinlösungen.

3. VII. 07. Zwei vor drei Tagen gefangene Eskulenten. Gewicht 60 und 50 g. Gastrocnemien mit Knochenansatz präpariert. Muskeln ungefähr gleichgroß. Lösungen von G. Cl. 1,1:100 in dest. Wasser und ebenso in Ringerlösung und 1,1:1000 in Ringerlösung. Vier Schalen mit 50 ccm Lösung. Muskel I. und II. von einem und III. und IV. vom andern Frosch. I. in 1,1:100 Wasser, III. in 1,1:100 Ringerl., II. und IV. in 1,1:1000 Ringerl. Lufttemp. 20,5°, Lösung 19,5°.

5.15 Alle vier Muskeln eingelegt.
5.19 III. in 1,1:100 Ringerl. zuckt häufig. (Nach 4 Min.)
5.20 II. in 1,1:1000 zuckt. (Nach 5 Min.)
5.21 IV. in 1,1:1000 zuckt. (Nach 6 Min.)
5.23 III. zuckte bisher ohne Unterbrechung; jetzt vollständig ruhig geworden. II. u IV. zucken sehr lebhaft. I. bisher keine Zuckung.
5.40 I. in 1,1:100 dest. Wasser zeigt eine Zuckung. (Nach 25 Min.)
5.50 I. zeigt wiederholt kleine Zuckungen. III. hat seither nicht mehr gezuckt.

6.15 I. und III. zeigen ab und zu kleine Zuckungen. Beide in Ringerlösung. IV. zeigt kaum mehr, II. noch mäßige Zuckungen.

6.30 II. und IV. in Ringerlösung. II. zeigt sofort, IV. nach einigen Minuten wieder kräftige Zuckungen. I. und III., nachdem anfangs einige Zuckungen in Ringerlösung aufgetreten waren, nunmehr vollständig ruhig.

Während also in starken Guanidinlösungen nur schwache Zuckungen beobachtet werden, nimmt deren Intensität mit steigender Verdünnung zu. Wollte man die Gesamtarbeitsleistung eines Muskels in Guanidinlösungen feststellen, so würde diese in einer bestimmten mittleren Verdünnung eine maximale sein, in stärkerer und schwächerer Konzentration als diese abnehmen.

Da die Muskelzuckungen noch in sehr verdünnten, schon weitgehend elektrolytisch dissozierten Guanidinlösungen auftreten, hingegen nicht in starken Lösungen, so können dieselben jedenfalls nicht durch eine „Salzwirkung" des Guanidins ausgelöst werden; die typische peripher erregende Wirkung des Guanidiniumchlorids ist auf seine Ionen zurückzuführen.

Um zu entscheiden, ob das Anion (Cl') hierbei eine Rolle spielt, prüfte ich vergleichend Guanidiniumchlorid, -nitrat und -perchlorat.[1])

Legt man Frosch-Gastrocnemien in äquimolekulare (hier isotonischen Lösungen ungefähr gleichwertige) Lösungen von Natriumchlorid (0,7%), -nitrat (1,0%) und -perchlorat (1,5%), so zeigen die Muskeln die schwächsten Zuckungen im ersten, die stärksten im letzten Falle. Verdünnt man die genannten Lösungen mit gleichem Volumen Ringerlösung, so erscheinen nur noch in der Perchloratlösung[2]) kräftige Muskelzuckungen, in der Lösung des Nitrats sind sie minimal geworden und im Natriumchlorid treten sie nicht mehr auf. Bei gleichbleibendem Kation zeigen sich hier Verschiedenheiten in der Wirkung des Anions. Diese Tatsache weist auf eine sicherlich vorhandene erregende Wirkung des Anions hin, welche am intensivsten beim Perchloration am schwächsten beim Chlorion zu sein scheint. Kommt in den wirksamen ver-

1) Dieses Produkt stellte ich aus Guanidiniumsulfat und Baryumperchlorat, unter sorgfältiger Vermeidung eines Baryumsalzüberschusses, her.

2) Die intensive Wirkung des Natriumperchlorats, welche an die Guanidinwirkung erinnert, ist durch die Untersuchung von A. Kerry und E. Rost, Dieses Arch. 39 (1897) S. 144 bekannt geworden. — Ich möchte hier erwähnen, daß nach meinen Beobachtungen auch die Perchloratzuckungen durch Calcium- oder Magnesiumchlorid unterdrückt werden können und daß sie nach Ischiadicusdegeneration an isolierten Gastrocnemien und Füßen nicht mehr auftreten.

dünnten Guanidinlösungen dem Anion neben dem Guanidinkation irgendwelche Bedeutung zu, so muß sich bei den drei genannten Guanidinsalzen das Nitrat als stärker wirksam erweisen, wie das Chlorid und das Perchlorat auch hier als das wirksamste Salz erscheinen. Einen derartigen Unterschied im Wirkungsgrad der drei Salze konnte ich nicht feststellen. Sie erwiesen sich in genügend verdünnten äquimolekularen Lösungen als gleichwirksam. Ich glaube auf diese Weise dargetan zu haben, daß in solch schwachen Lösungen das Anion keine erregende Wirkung mehr besitzt und die erregende Wirkung verdünnter Guanidinsalzlösungen lediglich auf die Wirkung des Guanidiniumkations ($C(NH_2)_3$) zurückzuführen ist. Versuch 4 zeigt die Wirkung von Guanidiniumchlorid und -nitrat, Versuch 5 diejenige von -chlorid und -perchlorat.

Versuch 4. Vergleichung von Guanidiniumchlorid und -nitrat an Rana escul. und Bufo vulg.

14. VI. 07. Eine R. escul. und zwei Bufo, Gew. ca. 40 g., Gastrocnemien ohne Knochenansatz präpariert, in 50 ccm Lösung eingelegt. Lösungen: Guanidiniumchlorid 1,1 : 5000 und Guanidiniumnitrat 1,5 : 5000

6.31 R. escul. Beide Gastrocnemien eingelegt.
6.32 Zwei Füße eingelegt.
6.43 Gastrocnemius in Nitrat und Chlorid zuckt in derselben Minute. (Nach 12 Min.)
6.45 Fuß in Chlorid zuckt. (Nach 13 Min.)
6.46 Fuß in Nitrat zuckt. (Nach 14 Min.)
5.35 Bufo vulg. Zwei Füße eingelegt.
5.44 Zwei Gastocnemien eingelegt.
5.47 Fuß in Nitrat zuckt. (Nach 12 Min.)
5.51 Fuß in Chlorid zuckt. (Nach 16 Min.)
6.00 Beide Gastrocnemien beginnen zu zucken. (Nach 16 Min.)
6.02 Zwei weitere Füße eingelegt.
6.04 Zwei weitere Gastrocnemien eingelegt.
6.22 Gastrocnemius in Nitrat zuckt. (Nach 18 Min.)
6.23 Gastrocnemius in Chlorid zuckt. (Nach 19 Min.)
6.38 Fuß in Nitrat zuckt. (Nach 36 Min.)
6.40 Fuß in Chlorid zuckt. (Nach 38 Min.)

Versuch 5. Vergleichung von Guanidiniumchlorid und -perchlorat an Rana escul. und fusca.

20. VI. 07. Ran. escul. 54 g und R. fusca 25 g. Lufttemp. 22° und Lösungstemp. 20°. Gastrocnemien ohne Ansatz präpariert, in 50 ccm Lösung eingelegt. Lösungen von Guanidiniumchlorid 1,1 : 15000 und Guanidiniumperchlorat 1,9 : 15000.

11.28 Je ein Fuß und ein Gastrocnemius von R. fusca eingelegt.
11.35 Je ein Gastrocnemius von R. escul. eingelegt.
11.39 Fuß und Gastrocnemius von R. fusca zucken in Perchlorat. (Nach 11 Min.)

11.41 Fuß und Gastrocnemius von R. fusca zucken in Chlorid. Nach 13 Min.)

12.10 Gastrocnem. von Esculent. zuckt in Perchlorat. (Nach 35 Min.)

12.11 Gastrocnem. von Esculent. zuckt in Chlorid. (Nach 36 Min.)

In Versuch 4 fällt auf, daß von den gebrauchten Kröten die 'üße im einen Falle viel später als im andern zuckten, wie oben rwähnt also keine Regelmäßigkeit im Eintritt der Zuckungen beteht. Einmal zucken die Fußmuskeln, welche unter sich ebenfalls Jnterschiede aufweisen, früher, einmal später als die Gastrocnemien lesselben Beines. Versuch 5 bietet ein Beispiel für die raschere Reaktion der Muskeln von Rana fusca als derjenigen von R. esculenta, vozu hier allerdings die sehr verschiedene Größe der benutzten Tiere als beinflussend hinzukommt. Bemerkenswert ist aber jedenalls in beiden Versuchen das fast gleichzeitige Eintreten der Zuckungen in den Lösungen der verschiedenen Guanidinsalze.

Von der Tatsache einer Ionenwirkung des Guanidins ausgehend, das sich als einwertiges Ion dem Natriumion, wie erwähnt, n seinen physikalisch-chemischen Eigenschaften an die Seite stellt, kam mir der Gedanke, ob seine erregende Wirkung auf den Muskel nicht ebenso wie die des Natriums durch die zweiwertigen Ionen von Calcium und Magnesium aufgehoben werden könne. Ich fand diese Vermutung in der Tat bestätigt.

Der „Antagonismus ein- und zweiwertiger Ionen" ist neuerlings, seit den Arbeiten von Ringer, Locke, J. Loeb, Overton u. a. viel diskutiert worden. Für organische einwertige Ionen ist eine Beinflussung durch Calciumchlorid erst beim synthetischen Muscarin urch Loewi und Ishizaka[1]) bekannt geworden. Diesem reiht ch das Guanidin als zweites Produkt an.

Die Unterdrückung der Guanidinzuckungen durch Calciumchlorid elingt sowohl am isolierten Froschmuskel, wie am ganzen Frosch, nd zwar genügen bei diesem nicht tödliche und keine Lähmung erbeiführende Dosen zur Aufhebung der Zuckungen. Durch Gergens nd Baumann ist bekannt, daß die Guanidinzuckungen durch urarisierung des Frosches unterdrückt werden. Ich halte es nicht r ausgeschlossen, daß, ähnlich wie beim Calcium, auch vom Curarin och nicht zur Lähmung des Frosches führende Dosen ausreichen erden, um den Guanidinzustand zu beseitigen, habe aber eigene ersuche in dieser Richtung bisher nicht angestellt.

1) O. Loewi und T. Ishizaka, Ueber d. Wirkung von Muskarin a. das nicht oder unzureichend gespeiste Froschherz und die Gegenwirkung von Kalziumsalz. Zentralbl. f. Physiol. 19 (1905) S. 593.

Ich gebe in Versuch 6 zunächst Beobachtungen am intakten Frosch wieder. Am besten wird den Tieren das Calciumchlorid intramuskulär injiziert und die Guanidinlösung subkutan. Man kann Frösche durch Calciumchlorid vorbehandeln und auf diese Weise gegen die Guanidinwirkung schützen, oder bereits vorhandene Guanidinzuckungen durch Calciumchlorid unterdrücken. Die Calciumwirkung geht am lebenden Tiere, im Gegensatz zur Guanidinwirkung, allerdings in einigen Stunden vorüber und man muß dann neue Dosen injizieren, um die wieder durchbrechenden Guanidinzuckungen abermals zu beseitigen.

Versuch 6. Antagonismus Guanidin-Calcium am lebenden Frosch.

18. II. 07. Zwei Ran. fusca zu 35 g. Nr. I und II. Lösung von Guanidiniumchlorid in dest. Wasser 1 : 100 und von krystall. Calciumchlorid 1 : 100.

5.07 I. In die Muskulatur von jedem Oberschenkel je 1 ccm Calciumchloridlösung (2 × 1 ctg).

5.10 I. Unter die Haut des rechten Oberschenkels 1 ccm. Guanidinlösung (1 ctg).

5.12 II. Gleiche Dose Guanidin unter die Haut des rechten Oberschenkels.

5.25 II. Sehr unruhig, beständige Bewegungen der Hinterbeine, Zuckungen in den Zehen beiderseits, in der Steißgegend, Muskulatur der Vorderbeine und des Rückens.

I. Sitzt ruhig; von normalem Frosch nicht zu unterscheiden; springt auf Kneifen der Beine.

19. II. 07. 10.00 I. und II. Beide Tiere sitzen aufrecht, beide zeigen „wogende Atmung", Zuckungen wenig stark. Bei I. jedenfalls so stark, wie bei II. Beide Tiere abgespült.

12.47 I. und II. Zustand wie oben, unverändert. I. bekommt je 1 ccm Calciumchloridlösung in die Oberschenkelmuskulatur beiderseits.

1.00 I. Keine Zuckungen mehr, Atmung normal.

7.00 I. Sitzt ruhig, Atmung normal. II. Gesteigerte Reflexe, wogende Atmung.

20. II. 07. 11.00 I. Tier vollständig ruhig; manchmal Andeutung von Zuckungen.

II. Starke Zuckungen in Beinen und Atemmuskulatur.

Aus Versuch 7 und 8 ist der Antagonismus von Guanidin und Calcium am isolierten Muskel zu ersehen, und zwar im Versuch durch unzureichende Mengen von Calciumchlorid nur eine Verzögerung im Auftreten der Guanidinzuckungen, im Versuch 8 eine vollständige Unterdrückung derselben während der Dauer des Versuches.

Versuch 7. Guanidin und Calcium. Isolierte Muskeln. Hemmung der Zuckungen.

23. I. 07. Rana fusca zwei größere zu 25 g und zwei kleine zu

10 g. Gastrocnemien mit Ansatz präpariert. In jeder Schale 25 ccm Lösung. Von den acht Muskeln in jede Schale ein kleiner und ein großer. Lufttemp. 18°, Lösung 17°. Lösungen: I. GCl. 1 : 10000. II. GCl. 1 : 5000. III. GCl. 1 : 5000 25 ccm und 1/2 ccm $CaCl_2 + 6aq$. 1 : 100. IV. GCl. 1 : 5000 25 ccm und 1 cm $CaCl_2 + 6$ aq.

4.30—31 Alle Muskeln aus Ringerlösung heraus in Guanidinlösungen eingelegt.

4.40 II. Kleiner Muskel zuckt. (Nach 10 Min.)

4.44 I. Kleiner Muskel zuckt. (Nach 14 Min.)

4.47 II. Großer Muskel zuckt am Sehnen- bald auch am Knieende. (Nach 17 Min.)

4.55 III. Kleiner Muskel beginnt zu zucken, mehr am Sehnen- als am Knieende, fast gleichzeitig leichte Zuckungen am Sehnenende des großen Muskels. (Nach 25 Min.)

5.00 III. Großer Muskel zuckt auch am Knieende kräftig.

5.10 I. Großer Muskel leichte Zuckungen am Sehnenende. (Nach 40 Min.)

5.30 IV. Kleiner Muskel zuckt, angestoßen, zweimal, großer nicht. (Nach 60 Min.)

5.50—6.30 IV. Kleiner Muskel ab und zu eine vereinzelte Zuckung, großer Muskel durchaus unbeweglich.

6.30 IV. Da großer Muskel im Verlauf von zwei Stunden keine Zuckung gezeigt hat, wird er in Ringerlösung gelegt.

6.35 IV. Großer Muskel beginnt in Ringerlösung zu zucken.

6.37 I. Großer Muskel, welcher in 1 : 10000 immer nur schwache Zuckungen gezeigt hat, in 1 : 5000 (II) übertragen. Hier zeigt er bald lebhafte Zuckungen.

Der Versuch veranschaulicht zunächst die verschiedene Reizbarkeit von Muskeln verschieden alter Tiere; die Muskeln jüngerer Tiere zeigen größere Reizbarkeit als die der älteren. Entsprechend der größeren Reizbarkeit sind für kleinere Muskeln auch größere Kalkdosen zur Unterdrückung der Guanidinzuckungen nötig. 1/2 ccm Calciumchloridlösung auf 25 ccm Guanidinlösung 1 : 5000 hemmt Guanidinzuckungen wenig, 1 ccm schon ziemlich stark, doch, wie auch aus dem folgenden Versuch zu ersehen ist, noch nicht vollständig.

Versuch 8. Guanidin und Calcium. Isolierte Muskeln. Unterdrückung der Zuckungen.

25. I. 07. Rana fusca. Gew. 40 g. Lufttemp. 19°, Lösung 18°. Lösungen: I. GCl. 1 : 5000 25 ccm und 1 ccm $CaCl_2 + 6$ aq. 1 : 100. II. GCl. 1 : 5000 25 ccm und 2 ccm $CaCl_2 + 6$ aq.

5.02 In I. und II. je ein Gastrocnemius und Sartorius, ohne Ansatz präpariert, eingelegt.

5.26 Gastrocnemius zuckt in I. (Nach 24 Min.)

6.33 Sartorius hat bisher (1 St. 31 Min.) in Lösung I nicht gezuckt; in Ringer gelegt.

6.34 Sartorius aus I zuckt kräftig in Ringerlösung.

6.52 Gastrocnemius und Sartorius in II haben bisher (1 St. 50 M.) nicht gezuckt und werden in Ringerlösung übertragen.

6.53 Sartorius aus II in Ringerlösung zuckt stark.

7.07 Gastrocnemius aus II beginnt erst jetzt schwach zu zucken.

1 ccm Calciumchloridlösung 1 : 100 auf 25 ccm Guanidiniumchloridlösung 1 : 5000 genügt noch nicht, um Guanidinzuckungen an Gastrocnemien sicher zu unterdrücken; dieselben treten verspätet auf, doch sie werden nicht völlig aufgehoben. 2 ccm Calciumchloridlösung auf dieselbe Guanidinmenge beseitigen sicher für mehrere Stunden, d. h. soweit meine Beobachtung ausgedehnt wurde, die Guanidinzuckungen. Die erwähnte geringere Reizbarkeit des Sartorius gegenüber dem Gastrocnemius zeigt sich auch im Versuch 8 wieder.

In 25 ccm genannter Guanidinlösung sind 5 mg Guanidiniumchlorid enthalten. Hierzu kamen für Lösung I 1 ctg, für Lösung II 2 ctg wasserhaltiges Calciumchlorid (= die halbe Menge wasserfreies Produkt), wozu sich noch der Kalkgehalt der Ringerlösung addiert. Die von mir angewandte Ringerlösung hatte die Zusammensetzung: $NaHCO_3$ 0,1, $CaCl_2$ 0,1, KCl 0,075, NaCl 6,0, dest. Wasser 1 L. Für 25 ccm Ringerlösung also 2,5 mg $CaCl_2$. Es sind folglich auf 1 Teil Guanidiniumchlorid 1,5—2,5 Teile wasserfreies Calciumchlorid zur Hemmung und Unterdrückung der Guanidinzuckungen nötig. (1 p. GCl. : 2,36 p. Ca Cl_2 = 1 mol. GCl : 2 mol. $CaCl_2$) Diese Kalkmengen sind sehr beträchtlich gegenüber den geringen Mengen die nötig sind zur Unterdrückung der Natriumchloridzuckungen.

Nicht allein Calciumchlorid sondern auch Magnesiumchlorid kann am isolierten Muskel Guanidinzuckungen unterdrücken, eine Eigenschaft des Magnesiumsalzes, welche es auch gegenüber den Zuckungen des Natriumchlorids nach J. Loebs Beobachtungen besitzt[1]). Quantitative Versuche mit Magnesiumchlorid am isolierten Muskel und solche am lebenden Frosch habe ich nicht angestellt.

Von Wichtigkeit erscheint es mir festzustellen, ob Guanidinzuckungen, welche auch bei höheren Tieren beobachtet werden, durch Kalkgaben beseitigt werden können. Tierversuche in dieser Richtung sind in Angriff genommen worden. Ein positives Ergebnis derselben würde einen Ausblick in Erscheinungen der menschlichen Patho-

---

1) J. Loeb, Ueber Ionen, welche rhythmische Zuckungen d. Skelettmuskeln hervorrufen. Festschrift f. A. Fick 1899. S. 99.

logie gestatten. Da das Guanidin und Methylguanidin sicherlich eine Rolle im tierischen Stoffwechsel spielen, so halte ich es nicht für ausgeschlossen, daß bei einer Störung der Kalkaufnahme nervöse Erscheinungen durch diese Produkte ausgelöst werden können und denke z. B. an die Tetanie bei Rachitis.

III. Das Eindringen des Guanidins in den Muskel.

Nimmt man mit Gergens und Baumann das motorische Nervenende als Ort der Wirkung des Guanidins an — und ich werde die Richtigkeit dieser Anschauung weiter unten darzutun versuchen — so muß dasselbe, um an den Ort seiner Wirkung zu gelangen Perimysium externum und internum und, mit Kühne (1862), Engelmann (1863) und Späteren und im Gegensatz zu Kölliker (1862) und W. Krause (1863) hypolemmale Lage der motorischen Endplatte vorausgesetzt, das Sarkolemm durchdringen. Das Sarkolemm des Muskels ist nach Overton[1]) ebenso wie die Perimysien für Krystalloide durchlässig, die äußerste Grenzschicht der Muskelfaser ist hingegen, wie die Hülle der Erythrocyten, semipermeabel und als solche für Neutralsalze und ihre Ionen undurchlässig.

Während demgemäß, wie unten weiter ausgeführt wird, ein Eindringen größerer Mengen des Guanidinsalzes in die lebende Muskelzelle selbst nicht nachzuweisen ist, steht seinem Vordringen zum motorischen Nervenende nichts im Wege.

Um zu einem Verständnis der Wirkung des Guanidins zu gelangen, müssen folgende Momente festgehalten werden.

Die Guanidinzuckungen können durch Zusatz von Calciumchlorid in ihrem Auftreten verzögert und bei großen Dosen ganz verhindert werden. Das Calciumchlorid dürfte dem Guanidin gegenüber hierbei eine doppelte Rolle spielen.

Erstens verlangsamt es augenscheinlich das Vordringen desselben bis zur Nervenendigung, und verzögert so das Auftreten der Guanidinzuckungen, zweitens lähmt es, in großen Dosen, selbst peripher und verhindert die Reizübertragung vom erregten Nerven auf den Muskel. Dabei muß der Kalk rascher in den Muskel eindringen, wie das Guanidin, da die Schutzwirkung einer bestimmten mittleren Kalkkonzentration nur beschränkte Zeit dauert und er dringt rascher wieder aus, da ein Muskel, welcher in Kalk-Guanidinlösung nicht zuckt, in Ringerlösung übertragen, Zuckungen zeigt. Für rascheres Ein- und Ausdringen

1) E. Overton, Beiträge zur allgemeinen Muskel- und Nervenphysiologie. I. Mitteilung. Pflügers Arch. 92 (1902) S. 136.

des Calciums spricht auch der Befund am lebenden Frosch, an welchem Guanidinzuckungen sehr bald durch Calciumchlorid unterdrückt werden können, aber eine schützende Dose nur beschränkte Zeit wirksam ist.

Ob ähnlich, wie Straub[1]) dies für das Veratrin und Muskarin am Herzmuskel feststellte, eine Speicherung des Guanidins am oder im Nervenende stattfindet, habe ich nicht bestimmt. Die Tatsache, daß in sehr verdünnter Guanidinlösung Zuckungen erst sehr spät auftreten, könnte auf eine allmähliche Ansammlung des Guanidins bis zu einem bestimmten Schwellenwert hinweisen, wäre aber auch durch Verzögerung des Eindringens durch den Kalk der Ringerlösung verständlich.

In verdünnten Guanidinlösungen können die Zuckungen länger als 24 Stunden bestehen, in stärkeren gehen dieselben bald vorüber und der Muskel erscheint ruhig. Prinzipiell wichtig ist es, daß auf dieses Stadium bei Verminderung der äußeren Guanidinkonzentration wieder ein langandauerndes Stadium der Erregung folgt.

Für das Muskarin konnte Straub[2]) nachweisen, daß der Vorgang des Eindringens in den Herzmuskel selbst, also ein Strömungsvorgang, als wirksamer Reiz anzusehen ist. Denselben Vorgang bei der Einwirkung des Guanidins auf den Muskel oder vielmehr das Nervenende als wirksamen Reiz anzusehen, ist wohl nicht angängig, denn man müßte sonst als gleichwirksam auch den Vorgang des Ausdringens betrachten. Erregend wirkt hier das Vorhandensein einer bestimmten Guanidinkonzentration am Orte der Wirkung. Ist diese überschritten, so geht die Erregung in Lähmung über, welche beim Absinken der Konzentration wieder der Erregung weicht. Den intimeren Vorgang der Reizung könnte man sich, wie von Frey[3]) bei der chemischen Muskelreizung, mit dem Auftreten von Verletzungsströmen durch das Guanidin am Nervenende oder, wie Overton[4]) beim Natriumchlorid, im Zusammenhang mit der wichtigen

---

1) W. Straub, Quantitative Untersuchungen über das Eindringen von Alkaloiden in lebende Zellen. Pflügers Arch. 98 (1903) S. 233 und Archivio di Fisiologia vol. I (1903) p. 55. — Ferner R. Rhodius und W. Straub: Studien über die Muskarinwirkung usw. Pflügers Arch. 110 (1905) S. 492.

2) W. Straub, Mechanismus der Muskarinwirkung am Herzen usw. Zentralblatt für Physiologie 19 (1905) S. 302. Derselbe, Die chemische Kinetik der Muskarinwirkung usw., Pflügers Arch. 119 (1907) S. 127.

3) M. von Frey, Allgem. Physiol. d. quergestreiften Muskeln. Nagels Handbuch der Physiologie, IV (1907) S. 509.

4) E. Overton, Beiträge zur allgemeinen Muskel- und Nervenphysiologie. II. Mitteilung. Pflügers Arch. 105 (1904) S. 280.

Rolle des Calciums (bezw. Magnesiums), durch fortschreitende Dissoziation einer am Nervenende vorhandenen Kalkverbindung erklären.

Die Frage, ob das Guanidinsalz und seine Ionen in das lebende Nervenende selbst einzudringen vermögen, oder ob die äußere Grenzschicht des Nervenendes semipermeabel ist wie die der Muskelfaser, und sich die Vorgänge der Erregung und Lähmung nur an der Oberfläche desselben abspielen, lasse ich noch unentschieden.

Während sich, wie Overton [1]) dargetan hat, bei toten Muskeln die Permeabilitätsverhältnisse vollständig gegen früher verändern, läßt sich ein Eindringen der Elektrolyte in die lebende Muskelzelle vermittelst Overtons [2]) Methode der Muskelwägung nicht nachweisen. Dem Natriumchlorid schließt sich auch hierin das Guanidiniumchlorid vollständig an.

Einer mit dem Muskel isotonischen 0,7%igen Natriumchloridlösung ist eine 1,1%ige Guanidiniumchloridlösung äquimolekular. Den physikalisch-chemischen Konstanten entsprechend muß diese Lösung auch denselben osmotischen Druck besitzen, wie die genannte Kochsalzlösung. Dies läßt sich durch Einhängen von Froschsartorien nach Overtons Methode leicht dartun.

Versuch 9. Vergleichung isotonischer Guanidin- und Harnstofflösung.

30. IV. 07. Rana fusca 35 g. Beide Sartorien präpariert, der eine am Beckenende glatt abgeschnitten, der andere mit Ansatz am Beckenknochen. Die Muskeln wurden nach der Präparation, um den während derselben erlittenen Wasserverlust zu ersetzen, zwei Stunden lang in Ringerlösung von 15° gelegt. (Diese Methode habe ich immer angewandt anstelle der von Biedermann empfohlenen Berieselung der Muskeln während der Präparation.) Der Muskel A, ohne Knochen, kam in die Guanidinlösung, der andere B in die Harnstofflösung. Die Guanidinlösung war mit Natriumkarbonat neutralisiert worden. A. Gew. 160 mg, Länge 3,2 cm, E. R. Reizschwelle bei RA. 29 cm. B. Gew. 180 mg, L. 3,1 cm, ERSchw. RA. 28 cm.[3])

1.00. Sartorien an feinem Seidenfaden fixiert in Lösungen von 1,1% Guanidiniumchlorid und 1,3% Harnstoff eingehängt. Muskel in Guanidin ist beim Einhängen vollständig ruhig. Nach vier Minuten zeigt er eine Zuckung, die sich nicht mehr wiederholt. Leichte Krümmung. Der Muskel in Harnstofflösung zeigt vier Minuten lang „spontane Zuckungen";

---

1) E. Overton, l. c. I. Mitteilung, S. 273.

2) E. Overton, l. c. I Mitteilung S. 125.

3) Zur Reizung diente ein Schlitteninduktorium mit 2 Volt im primären Stromkreis und 5000 Windungen der sekundären Rolle.

dann ist er ruhig; drei Minuten später: Tetanus, welcher sich alle zwei bis drei Minuten wiederholt: dabei S förmige Krümmung des Muskels.

2.45. Muskel in Harnstofflösung ist starr, gerade ausgestreckt, opak, verbreitert. Gew. 320 mg, L. 3,2 cm, elektrisch unreizbar. In Ringerlösung eingehängt. In Guanidinlsg. Muskel etwas verkürzt, leicht gekrümmt, doch normal durchsichtig, gut biegsam, Oberfläche glatt. Gew. 155 mg, L. 2,6 cm, ERSchw. RA. 15 cm.

4.45 GCl. ERSchw. RA. 8 cm, Gew. 160 mg. Ur. E. R. RA.O erfolglos, Gew. 270 mg.

5.45 GCl. ER. bei RA. O keine Zuckung, Gew. 160 mg. L. 1,8 cm, noch ziemlich durchsichtig; in Ringerlösung gelegt. Ur. E R. RA. O erfolglos, Gew. 240 mg, Muskel opak, doch wieder weich.

7.00. Kein Muskel reizbar.

1. V. 07. 9.00 GCl. E. R. RA. O keine Zuckung, L. 1,8 cm Gew. 180 mg. Ur. E. R. RA. O keine Zuckung, L. 2,9 cm, Gew. 230 mg.

Versuch 10. Vergleichung einer isotonischen mit einer durch Natriumchlorid verdünnten Guanidinlösung.

18. IV. 07. Rana fusca, großes Tier. Zwei Sartorien ohne Ansatz präpariert. Beide eine Stunde lang in 0,7%ige Natriumchloridlösung eingehängt, in welcher sie lebhafte Zuckungen zeigen. Um Natriumsalz möglichst auszuschließen, war die Guanidinlösung mit Magnesiumoxyd neutralisiert worden. Muskel A in isotonische, B in verdünnte Guanidinlösung. Beim Einsetzen: A. Gew. (noch im Zunehmen begriffen) 180 mg, ERSchw. RA. 24 cm. B. Gew. 190 mg, ERSchw. RA. 23 cm.

12.30. Sartorien in Lösungen eingehängt: A in 1,1% GCl., B in 0,55% GCl.+0,35% NaCl.

12.35. A. Die spontanen Zuckungen des Muskels in der Natriumchloridlösung hören in der Guanidinlösung sehr bald auf. Nach 5 Minuten vollständige Ruhe. ERSchw. RA. 17 cm.

12.40. B. Nach dem Einsetzen kleine häufige Zuckungen, die bald nachlassen, doch zuckt Muskel noch nach 10 Minuten ab und zu spontan, jedoch seltener als in der NaCl lösung. ERSchw. RA. 20 cm.

12.45. A. Gew. 190 mg, ERSchw. RA. 15 cm. B. Gew. 190 mg, ERSchw. RA. 20 cm. B. hat bisher noch spontane Zuckungen gezeigt, die jetzt selten werden. Beide Muskeln noch gut durchsichtig, auch Form normal, gerade ausgestreckt.

1.00. A. Gew. 190 mg, ERSchw. RA. 15 cm. B. unverändert.

2.00. A. Gew. 190 mg, ERSchw. RA. 8—9 cm. Muskel etwas geschrumpft, aber noch gut durchsichtig.

2.10. B. Gew. 190 mg, ERSchw. RA. 20 cm.

4.20. A. Gew. 220 mg, E. R. RA. O keine Zuckung. Muskel starr, z. T. geschrumpft, weniger durchsichtig. In 0.7%ige NaCl-Lösung gehängt.

4.30. B. Gew. 190 mg, ERSchw. RA. 15 cm.

5.30. B. Gew. 190 mg, ERSchw. RA. 8—9 cm. Muskel wird schon starrer und hat sich etwas kontrahiert. Zuckungen bei elektrischer Reizung nur noch schwach; auch hat die Reizleitung gelitten, denn es zeigen sich Unterschiede in den Zuckungen je nach der gereizten Stelle.

Der Muskel wird in 0,7% ige NaCl Lösung gehängt.

5.40. A. Gew. 260 mg, Muskel starr und stark verbreitert.

6.30. A. Gew. 300 mg. B. Gew. 210 mg, Muskel steif und unreizbar.

19. IV. A. Gew. 280 mg, B. Gew. 320 mg.

Versuch 9 zeigt eine Vergleichung einer 1,1%igen Guanidinlösung, welche mit etwas Natriumkarbonat neutralisiert worden war, mit einer isotonischen Harnstofflösung. Nach zwei Stunden hat der Muskel in der Harnstofflösung vollständig seine Reizbarkeit eingebüßt und zeigt Wasserstarre; sein Gewicht hat in dieser Zeit stark zugenommen. In der Guanidinlösung ist der Muskel noch nach fünf Stunden elektrisch reizbar und hat sein Gewicht nicht verändert. Erst am folgenden Tag zeigt sich eine Gewichtszunahme, während der Harnstoffmuskel nach anfänglicher Zunahme wieder abgenommen hat.

Um das Natriumchlorid nach Möglichkeit auszuschließen, — etwas gelangt ja mit dem Muskel selbst noch in die Lösung, — wurde die sauer reagierende Guanidinlösung in Versuch 10 mit Magnesiumoxyd versetzt; sie reagierte in der Folge gegen Lackmus schwach alkalisch und mag die Gegenwart von freiem Alkali die Ursache davon sein, daß sich der Guanidinmuskel in diesem Versuch weniger lange Zeit reizbar erwies, als in Versuch 9. Bedeutend länger als in der isotonischen Guanidinlösung bewahrt der Muskel seine Reizbarkeit in einer Mischung gleicher Teile isotonischer Guanidinium- und Natriumchloridlösung.

Wie Overton schon bei den Alkalisalzen festgestellt hat, findet in den isotonischen Lösungen keine Gewichtszunahme des Muskels statt, solange derselbe elektrisch reizbar ist. Erst sobald er abgestorben ist, verändern sich, wie erwähnt, seine osmotischen Eigenschaften und derselbe nimmt dann, unter Volum- und Gewichtszunahme, Wasser auf, genau wie dies in Versuch 9 und 10 auch beim Guanidin wahrzunehmen ist.

Die isotonischen Lösungen von Kalium-, Rubidium- und Caesiumchlorid lähmen den Muskel schon nach kurzer Zeit vollständig. Etwas weniger schädlich sind nach Overton die Ammoniumsalze, während bekanntlich isotonische Natriumchloridlösungen nur die indirekte Reizbarkeit des Muskels aufheben, aber die direkte Reizbarkeit intakt lassen.

Das Guanidin nimmt nach meinen Versuchen eine Mittelstellung zwischen Natrium und Kalium ein. Das Guanidiumchlorid ist

jedenfalls bedeutend weniger schädlich als das Ammoniumchlorid und nähert sich auch hier mehr dem Natriumchlorid.

Wie zu erwarten war, läßt sich die schädliche Wirkung des salzsauren Guanidins durch Zusatz von Calciumchlorid vermindern. In den drei folgenden Versuchen wurde von zwei Sartorien der eine jeweils in eine isotonische Guanidinlösung, der andere in eine isotonische Zuckerlösung eingehängt, welchen beiden dieselbe Menge isotonischer Calciumchloridlösung zugesetzt wurde. Die schützende Wirkung des Kalksalzes kommt, wie in Overtons Versuchen, hauptsächlich gegenüber dem Elektrolyten (dem Guanidin) zur Geltung, kaum gegenüber dem Rohrzucker. Versuch 11 wurde mit kleineren, 12 mit größeren Kalkdosen und 13 mit Kalk- und Magnesiumzusatz gemacht.

Versuch 11. Vergleichung isotonischer Guanidin- und Zuckerlösung mit geringem Kalkzusatz.

24. IV. 07. Rana fusca, groß, frisch eingefangen. Beide Sartorien mit Beckenansatz ohne Verletzung präpariert. Gew. nach vierstündigem Liegen in Ringerlösung 250 mg, L. 3,5 cm, ERSchw. RA. 27 cm.

3.45. Muskeln eingehängt in je 20 ccm Lösung A. GCl. 1,1% 18 ccm + 2 ccm isoton. Calciumchloridlösung (= 2% $CaCl_2$ + 6 aq.) B. Reiner Rohrzucker 6% 18 ccm + 2 ccm Calciumchloridlösung.

Beim Einhängen in die Zuckerlösung zeigt der Muskel einige Zuckungen, später langsame Krümmungen, wobei der Muskel dauernd gebogen bleibt; der Muskel in Guanidin zeigt keine Zuckungen, zieht sich wellig zusammen.

4.15. Beide zucken bei RA. 10 cm, beide noch gut durchsichtig.

4.45. Beide zucken bei RA. 10 cm, bei Zuckermuskel Zuckung mehr lokal. L. 2,7 cm verbreitert, Guanidinmm. L. 2,9 cm. Gew. von beiden 230 mg.

5.45. A. ERSchw. RA. 10 cm, L. 2,3 cm. B. ERSchw. RA. 7 cm, nur am spitzen Ende Zuckung, L. 1,7 cm. Zuckermuskel weniger durchsichtig als Guanidinmuskel.

6.45. A. ERSchw. RA. 10 cm, L. 2,3 cm, Gew. 230 mg. B. ERSchw. RA. 5 cm, L. 1,5 cm, Gew. 210 mg. Oberfläche beider Muskeln erscheint körnig, beide sind verbreitert. Bleiben über Nacht in den Lösungen hängen.

25. IV. 07. Beide elektrisch unreizbar. A. Gew. 210 mg, L. 1,8 cm. B. Gew. 170 mg, L. 1,3 cm, beide undurchsichtig. Erholen sich in Ringerlösung nicht wieder.

Versuch 12. Vergleichung isotonischer Guanidin- und Zuckerlösung mit größerem Kalkzusatz.

25. IV. 07. Rana fusca, groß. Zwei Sartorien; einer, mit Ansatz am Becken, ist etwas verletzt, der andere gut. Länge beider 3,5 cm. Gewicht nach einstündigem Liegen in Ringerlösung A (mit Ansatz) 240 mg, ERSchw. RA. 34 cm. B. 260 mg, ERSchw. RA. 28 cm.

11.31. Muskeln eingehängt in Lösungen, Temp. 17°. A. in 15 ccm isoton. GCl. + 5 ccm isoton. Calciumchlorid. B. in 15 ccm isoton. Zuckerlsg.

(= 6%) + 5 ccm isoton. Calciumchlorid. Muskeln zeigen beim Einhängen in die Lösungen keine Zuckungen und auch später nicht. Sie krümmen sich allmählich.

12.01. A. ERSchw RA. 12 cm, schwache Zuckung. B. ERSchw. RA. 14 cm, schwache Zuckung.

1.00. A. ERSchw. RA. 10 cm, Gew. 240 mg. B. ERSchw. RA. 9 cm, Gew. 230 mg.

3.00. A. ERSchw. RA. 10 cm, Gew. 230 mg, L. 2,5 cm. B. ERSchw. RA. 9 cm. Gew. 210 mg, L. 2 cm.

5.30. A. ERSchw. RA. 9 cm, Gew. 220 mg, L. 2 cm. B. ERSchw. RA. 8 cm, Gew. 200 mg, L. 1,2 cm.

Beide Muskeln in Ringerlösung eingehängt.

6.30. A. ERSchw. RA. 19 cm!, Gew. 230 mg, L. 2,3 cm. B. E. R. RA. 0 keine Zuckung, Gew. 200 mg, L. 1,2 cm.

Über Nacht beide Muskeln in Eisschrank gestellt.

26. IV. 07. 9.00. A. E. R. RA. 20 cm schwach lokal, 16 cm gut in ganzer Länge kontrahierbar. Gew. 230 mg, L. 2,4 cm. B. Vollständig unreizbar, Gew. 200 mg, L. 1,2 cm.

Versuch 13. Vergleichung isotonischer Guanidin- und Zuckerlösung mit Kalk und Magnesiumzusatz.

25. IV. 07. Rana fusca. Zwei Sartorien ohne Verletzung präpariert. Einer A. ohne Ansatz, einer B. mit Ansatz. Nach einstündigem Liegen in Ringerlösung A. ERSchw. RA. 27 cm, Gew. 230 mg, L. 3,3 cm. B. ERSchw. RA. 29 cm, Gew. 240 mg, L. 3,3 cm.

11.36. Muskeln eingehängt in Lösungen. A. In isoton. GCl. 15 ccm, isoton. Calciumchlorid 2,5 ccm, isoton. Magnesiumchlorid (= $MgCl_2$ + 6aq. 1,8 : 100) 2,5 ccm.

B. statt GCl. Zuckerlösung. Die Muskeln zeigen keine Zuckungen beim Einhängen und später. Der Guanidinmm. bleibt schön gerade ausgestreckt, der Zuckermm. krümmt sich etwas.

12.05. A. ERSchw. RA. 9 cm, schwache Zuckung. B. ERSchw. RA. 11 cm, schwache Zuckung.

1.05. A. ERSchw. RA. 10 cm, Gew. 230 mg. B. ERSchw. RA. 11 cm, Gew. 200 mg.

3.05. A. ERSchw. RA. 10 cm, Gew. 230 mg, L. 2,9 cm. B. ERSchw. RA. 11 cm, Gew. 190 mg, L. 2 cm. Guanidinmuskel sehr gut plastisch, hat normale Form, Durchsichtigkeit hat etwas abgenommen. Zuckermuskel ist gewulstet und gekrümmt, Durchsichtigkeit noch gut.

5.35. A. ERSchw. RA. 8 cm, noch gute Fortleitung des Reizes. Gew. 230 mg, L. 2,8 cm. Oberfläche beginnt körnig zu werden. Inhalt des Mm. erscheint, gegen das Licht gehalten, körnig. Mm aber noch gut biegsam, wenn auch Plasticität nicht mehr ganz normal.

B. ERSchw. RA. 6 cm, noch minimale Zuckung einzelner Fasern. Gew. 180 mg, L. 1,6 cm.

5.40. Beide Muskeln in Ringerlösung eingehängt.

6.40. A. ERSchw. RA. 13 cm, gute Zuckung. Gew. 240 mg, L. 2,9 cm.

B. ERSchw. RA. 5 cm, noch minimale Zuckung. Gew. 220 mg L. 1,8 cm.

Muskeln über Nacht in Eisschrank gestellt.

26. IV. 07. 9.00. A. E. R. RA. 20 cm schwache, 17 cm gute Kontraktion. Gew. 235 mg, L. 2,9 cm. Oberfläche dieses Muskels am wenigsten körnig, Mm. auch besser biegsam als der aus Versuch 12 (GCl. + $CaCl_2$), der etwas starrer ist. B. E. R. RA. 8 cm minimale Zuckung, auch bei R. A. O nicht stärker, Gew. 250 mg, L. 2,0 cm.

Erwähnt sei hier noch, daß die Lösungen mit den eingehängten Muskeln von Versuch 9—13, um Verdampfung derselben zu verhindern, in einer feuchten Kammer aufbewahrt wurden, und daß die durchschnittliche Temperatur des Versuchsraumes, wo nicht anders (Eisschrank!) bemerkt, 17° betrug.

Eine interessante Frage hat Overton[1]) in seinen „Beiträgen zur allgemeinen Muskel- und Nervenphysiologie" noch aufgeworfen, nämlich diejenige, ob andere anorganische Kationen das Natriumion in seiner Eigenschaft, die Reizbarkeit des Muskels zu erhalten, vertreten können. Er fand, daß das dem Natrium nahestehende körperfremde Lithium dasselbe mehr oder weniger zu ersetzen vermag. Wichtiger als diese Frage erschien mir jene, ob organische Kationen, namentlich das im Tierkörper vorkommende, dem Natrium in mancher Hinsicht ähnliche Guanidin, die Rolle des Natriums übernehmen könnten.

Ich folgte in meinen zur Entscheidung dieser Frage unternommenen Versuchen der von Overton[2]) beim Lithium angegebenen Versuchsanordnung.

Sartorien wurden in 6%ige Rohrzuckerlösung eingehängt und nach völligem Verlust der elektrischen Reizbarkeit in isotonische, mit Magnesiumoxyd neutralisierte, Guanidiniumchloridlösung übertragen. Ich habe bei den wenigen von mir hierüber angestellten Versuchen die Reizbarkeit der Muskeln in der Guanidinlösung nicht wiederkehren sehen, halte es aber nicht für ausgeschlossen, daß positive Resultate zu günstigerer Jahreszeit (in den ersten Wintermonaten) erzielbar sind.

IV. Die Curarewirkung des Guanidins.

Während Gergens und Baumann die durch das Guanidin an Fröschen bedingte zentrale Lähmung nicht erwähnen, wird von Putzeys und Swaen (S. 612) Rückenmarkslähmung durch die Substanz angegeben. Auf diese folgt dann nach letzeren Autoren, „eine

---

E. Overton, Beiträge z. allgem. Muskel- und Nervenphysiol. II. Mitteilg. Pflügers Arch. 92 (1902) S. 374.

E. Overton, l. c. II. Mitteilg. S. 376.

Schwächung der Nerven in ihren Funktionen" (S. 614) und „endlich ein schädlicher Einfluß auf die Muskelfasern" (S. 616).

Zusammenfassend (S. 634) geben Putzeys und Swaen von der Wirkung des Guanidins auf die „motorischen Nervenfasern" an, daß es „zuerst die letzten Endausbreitungen dieser Fasern in den quergestreiften Muskeln reizt . . ., wenn größere Mengen gebraucht sind vermindert es die Reizbarkeit der Nervenfasern". Von einer Lähmung des motorischen Nervenendes ist diesen Autoren nichts bekannt und auch späterhin konnte ich keine diesbezügliche Angabe auffinden.

Dennoch läßt sich Curarewirkung des Guanidins leicht und zwar in folgender Weise feststellen.

Vergiftet man Temporarien (Rana fusca), bei welchen die Guanidinlähmung im allgemeinen leichter als bei Esculenten eintritt mit größeren Guanidindosen, (5 ctg. für 30—40 g Temporaria, 10—20 ctg. für 50 g Esculenta), so entwickelt sich nach vorübergehender peripherer, dann zentraler Erregung zentrale Lähmung, auf welche im Verlauf von ein bis zwei Stunden die periphere Lähmung folgt. Man läßt den Frosch so lange liegen, bis vom freigelegten Ischiadicus aus durch tetanisierende Reizung auch bei vollständig übereinandergeschobenen Rollen keine Zuckungen der Fußmuskeln mehr auszulösen sind. Die Muskulatur reagiert zu dieser Zeit, bei direkter Reizung, in normaler Weise. Verfertigt man nun ein Nervmuskelpräparat des Frosches und legt von diesem nur den Muskel in Ringerlösung ein, während der Nerv sich im dampfgesättigten Raum des bedeckten Gefäßes über dem Flüssigkeitsspiegel befindet, so wird man, je nach dem Grad der Vergiftung, nach kürzerer oder längerer Zeit (eine halbe bis mehrere Stunden), durch elektrische Reizung vom Nerven aus wieder Muskelzuckungen auslösen können.

Stellt man das Nervmuskelpräparat zu einer Zeit her, wo noch keine vollständige periphere Lähmung vorhanden ist, so kann man die seit Böhms[1]) Untersuchung über die Nervenendwirkung des Curarins als charakteristisch für Substanzen mit Curarewirkung angesehenen Ermüdungsreihen bei indirekter Reizung mit Einzelinduktionsschlägen erhalten.

Ich gebe in Fig. 6 eine Serie charakteristischer Guanidinermüdungsreihen wieder.

Die rhythmische Reizung des Nervmuskelpräparates mit 5 Sekunden - Öffnungsinduktionsschlägen (Oe. Schl.) wurde mit einem rotierenden Abblender bewirkt. 2 Volt im primären Stromkreis, 5000

1) R. Boehm, Einige Beobachtungen über die Nervenendwirkung des Curarins. Dieses Arch. 35 (1895) S. 16.

Windungen der sekundären Rolle. Zwischen die einzelnen Ermüdungsreihen wurden Pausen von fünf Minuten eingeschaltet. Nachdem die tetanisierende Reizung bei R. A. 25 cm keine Zuckung des Muskels mehr auslöste, war auch bei R. A. 10—0 cm indirekt keine Zuckung erzielbar, während direkte Muskelreizung bei R. A. 10 cm noch maximale Zuckungen ergab. Auffällig erscheint in den Guanidinermüdungsreihen, im Gegensatz zu den Curarinreihen, der geringe Effekt tetanisierender Reizung. Ferner möchte ich auf das Auftreten spontaner Zuckungen in den Pausen der Ermüdungsreihen hinweisen. Ich habe diese Erscheinung namentlich im Anschluß an die Ermüdungsreihen bei nachfolgender direkter Muskelreizung beobachtet, und zwar selbst, wenn bei vollständig übereinander geschobenen Rollen rhythmische tetanisierende Reizung keine Muskelzuckung mehr auslöste. Sind, woran ich nicht zweifle, die hier auftretenden Zuckungen wirkliche Guanidinzuckungen, so würde dies beweisen, daß periphere Guanidinerregung und Lähmung nebeneinander bestehen können. Auch der diskontinuierliche Abfall der Guanidinermüdungsreihe könnte auf ein Persistieren der Guanidinerregung neben der Lähmung hinweisen. Ich komme auf diese Wahrnehmungen im folg. Teile zurück.

Fig. 6. R. fusca, ♂. 40 g. 10.05: 5 ctg. G. Cl. 12.05: Nerv-Muskelpraep. hergestellt. Achsenbel. 50 g. Zeitmark. 1 Sek., 5 Sek. Ö. Schl. Während der Pausen und in der ersten Ermüdungsreihe: „Spontane Zuckungen". (11. III. 07).

Auch geringere, als die angegebenen Guanidinmengen, können nach längerer Einwirkung Curarelähmung herbeiführen. In Versuch 14 ist ein derartiger Befund mit graphischer Registrierung der während der Erholung des Muskels zu erhaltenden Ermüdungsreihen (Fig. 7) wiedergegeben.

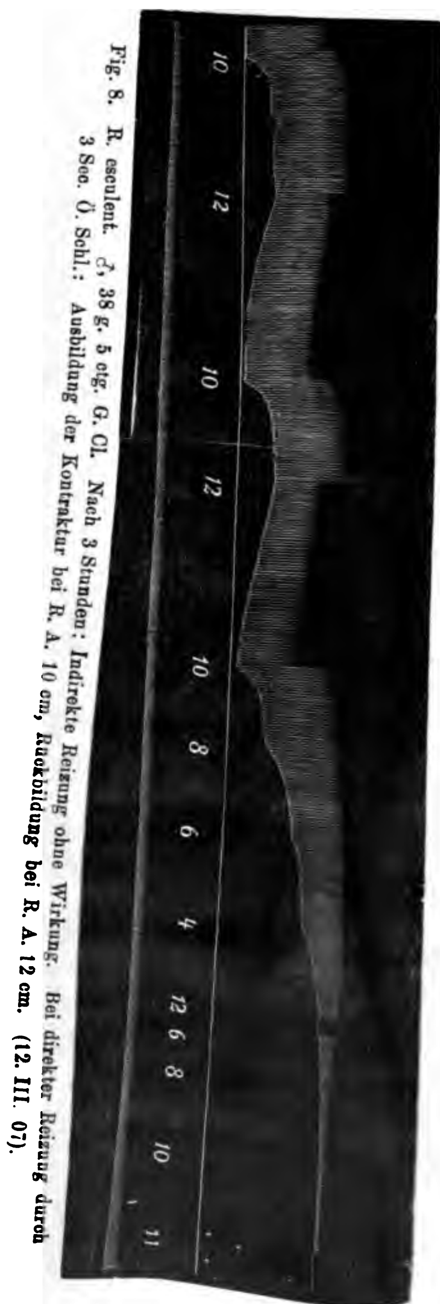


Fig. 8. R. esculent. ♂, 38 g. 5 ctg. G. Cl. Nach 3 Stunden: Indirekte Reizung ohne Wirkung. Bei direkter Reizung durch 3 Sec. Ö. Schl.: Ausbildung der Kontraktur bei R. A. 10 cm, Rückbildung bei R. A. 12 cm. (12. III. 07).

Versuch 14. Nachweis der Curarewirkung des Guanidins.

20. II. 07. 6.00. Abends. Rana fusca, 35 g erhält 2 ccm GCl. Lösung 1 : 100 (= 0,02 g) in den Brustlymphsack.

21. II. 10.00. Morgens. Frosch vollständig schlaff und reflexlos. Haut dunkel, nur noch selten schwache Guanidinzuckungen. Atmungsstillstand, nur noch Kehldeckelbewegung, Herzschlag langsam.

Herstellung des Nervmuskelpräparates. Muskulatur auffallend rot, flimmert stark bei der Präparation.

Muskel gibt maximale Zuckungen bei R. A. 11 cm. Nervenreizung bei R. A. 17—0 cm keine Spur von Zuckung.

10.30. Muskel in Ringerlösung eingehängt.

11.00. Zuckung vom Nerven aus erzielbar. Aufzeichnung der Ermüdungsreihe A unter 3 Sek. Öffnungs-Induktionsschlägen bei R. A. 17 cm.

11.12—22. 10 Minuten Pause. Dann Reihe B.

11.30—12.00. 30 Minuten Pause. Dann Reihe C.

12.07—12.47. 40 Minuten Pause für den Nerven; dazwischen Muskel direkt gereizt und Ringerlösung gewechselt. Dann Reihe D.

12.52—1.32. Pause von 40 Minuten. Muskel zeigt häufige spontane Zuckungen, die aber nicht zur Aufzeichnung gelangen wegen zu hoher Achsenbelastung. Dann Reihe E. Indirekte Reizung erst bei R. A. 17, dann 12, dann 5 cm.

Ist die Curarelähmung durch größere Guanidinmengen als in Versuch 14 hervorgebracht worden, so ist die Erholung des Präparates meist eine langsamere, als hier. Bemerkenswert ist in den verschiedenen Ermüdungsreihen der Fig. 7

die Neigung des Muskels zur Kontraktur, welche in der ersten Reihe am stärksten hervortritt und mit der Wiederherstellung normaler Reizbarkeit verschwunden ist. Die Neigung des Guanidinmuskels zu Kontrakturen zeigt sich hier bei indirekter, in Fig. 8 bei direkter Muskelreizung.

Die Reihe der Fig. 8 ist an einem Nervmuskelpräparat aufgenommen, welches bei indirekter Reizung keine Zuckungen gab. Bei direkter Reizung des während des Versuches vollständig in Ringerlösung getauchten Präparates zeigte sich von R. A. 10 cm an Neigung zur Kontraktur, die bei R. A. 12 rückgängig gemacht werden konnte und bei geringerem Rollenabstand zunahm. Es sei hier erwähnt, daß Santesson[1]) bei Aufzeichnung der Ermüdungsreihen von Produkten mit Curarewirkung Kontrakturen beobachtet hat, allerdings nur ausnahmsweise bei Einzelreizen, häufig hingegen bei tetanischer Reizung. Beim Guanidin konnte ich die Erscheinung auch bei Einzelreizen regelmäßig beobachten.

Es ist interessant, daß auch der Kochsalzmuskel Neigung zur Kontraktur zeigt und daß, ebenso wie das Kochsalz auch das Guanidin die Leistungsfähigkeit (Erregbarkeit) des Muskels steigert.[2])

Reizt man ein Nervmuskelpräparat mit 5-Sekundeneinzelschlägen vom Nerven aus, nachdem der Muskel in einer Guanidiniumchloridlösung (1 : 2000) suspendiert wurde, während der Nerv sich z. T. über dem Flüssigkeitsspiegel auf der Elektrode befindet, so sieht man nach einiger Zeit eine oft sehr erhebliche Zunahme der Zuckungshöhe des Muskels. (Fig. 9.) Erfolgen die Einzelreize zu rasch (2 Sek.) (Fig. 10), so wird nicht nur dieser Effekt des Guanidins verringert, sondern es verschwinden die Guanidinzuckungen auch vollständig aus der Ermüdungsreihe, während sie sich in Fig. 9 noch zwischen die elektrischen Einzelzuckungen hineinschieben können. Seltene elektrische Einzelreize lassen arhythmische Guanidinzuckungen durchbrechen oder steigern die Höhe sonst niedriger Zuckungen, häufige Reize vermindern oder unterdrücken sie.

Es zeigt sich hier eine ähnliche Beeinflussung der Guanidinkurve durch die Reizfrequenz, wie sie Mostinski[3]) bei der Veratrinkurve beschrieben hat, Beziehungen, welche an die von F. B.

1) C. G. Santesson, Versuche über Nervenendwirkung methylierter Pyridin- usw. -verbindungen. Dieses Arch. 35 (1895) S. 23.

2) F. S. Locke, Die Wirkung der physiologischen Kochsalzlösung auf quergestreifte Muskeln. Pflügers Arch. 54 (1893) S. 501.

3) B. Mostinsky, Die Formgesetze der Veratrinkurve des Froschmuskels. Dieses Arch. 51 (1904) S. 310.



Fig. 9. R. fusca ♂, 40 g. Nervmuskelpraeparat erst in Ringerlsg. eingehängt, bei ↑ gewechselt gegen G. Cl. 1 : 2000. Nerv über der Lösung. Achsenbel. 50 g. Zeitmark. 1 Sek., 4,5 Sek. Ö. Sohl. Indirekte Reizung. Steigerung der Leistungsfähigkeit. (5. III. 07).

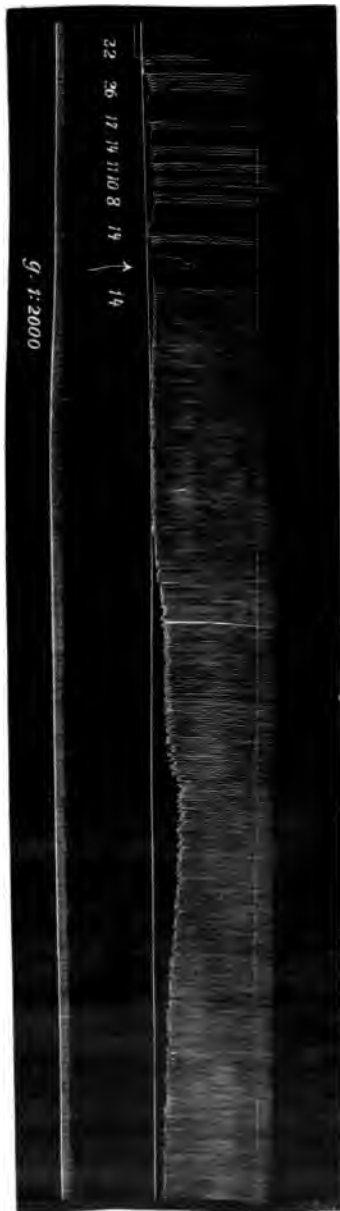


Fig. 10. R. fusca ♀, 40 g. Nervmuskelpräparat erst in Ringerlsg.; bei ↑ gewechselt gegen G. Cl. 1 : 2000. Nerv über der Lösung. Achsenbel. 50 g. Zeitmark. 1 Sek. 2 Sek. Ö. Sohl. Indirekte Reizung. Steigerung der Leistungsfähigkeit gering. Guanidinzuckungen unterdrückt (25. II. 07).

Hofmann[1]) für den Herzmuskel ermittelte Gesetzmäßigkeit erinnern, daß mit frequenterem Rhythmus die Höhe der Einzelzuckung

1) F. B. Hofmann, Ueber die Aenderung des Contractionsablaufes am Ventrikel und Vorhofe des Froschherzens usw. Pflügers Arch. 84 (1901) S. 301.

abnimmt. Nachträglich fand ich, daß schon Rossbach[1]) sowohl beim Curare, wie beim Guanidin Steigerung der Leistungsfähigkeit am Warmblütermuskel nachgewiesen hat.

Curarewirkung des Guanidins läßt sich nicht nur am lebenden Frosch, sondern, wie Versuch 15 zeigt, auch am isolierten Nervmuskelpräparat nachweisen.

Im allgemeinen wird der Eintritt der Lähmung, bei gleicher Dose, am lebenden Tier rascher zustande kommen als am ausgeschnittenen Präparat. Injiziert man einer Esculenta von 50 g 0,1 g Guanidiniumchlorid, so ist das Tier gewöhnlich nach zwei Stunden peripher gelähmt. Legt man ein Nervmuskelpräparat in eine entsprechende Guanidinlösung (1 : 500), so dauert es hier oft mehr wie doppelt so lang.

Versuch 15. Curarewirkung am Nervmuskelpräparat.

18. VI. 07. Rana esculenta, 50 g, lebhaftes gesundes Tier. Zwei Nervmuskelpräparate hergestellt. Nerv an der Wirbelsäule abgeschnitten. In Ringerlösung gelegt. Nerv auf Elektrode über der Flüssigkeit gereizt. Muskel direkt auf der Elektrode gereizt.

I. Nerv ERSchw. im prox. Drittel bei RA. 70 cm, im distal. (Knie) Drittel bei RA. 60 cm.

II. Nerv ERSchw. im prox. Drittel bei RA. 62 cm, im distal. (Knie) Drittel bei RA. 52 cm.

10.39. In GCl. 1,1 : 500 Ringerlsg. beide Präparate eingelegt.

10.44. Zuckungen beginnen.

10.50. Noch schwache Zuckungen.

10.52. Zuckungen vollständig vorüber.

10.55. I. ERSchw. RA. 53—55 cm prox. Dr. 61—62 cm distal. Dr.

II. ERSchw. RA. 62—64 cm prox. Drittel, 49—52 cm distal. Drittel. Die Gegenwart des Guanidins im Muskel bewirkt, daß die Schwellenwerte für die Reizung schwankend sind. Die Präparate werden während der Pausen in zugedeckter Schale bei 19° aufbewahrt.

11.55. Wie 10.55.

3.00. I. Keine Reaktion vom Nerven aus zu erzielen. Direkt reizbar bei RA. 24 cm.

II. Nur im distal. Drittel bei RA. 7—0 cm schwache Zuckung. Direkt reizbar bei RA. 23 cm.

3.15. Präparate zwei mal mit Ringerlösung gut abgespült, dann in 50 ccm Ringerlösung im Eisschrank aufbewahrt.

4.15. I. Noch keine Zuckung vom Nerven aus, doch manchmal schwache spontane Zuckungen.

II. Im distal. Drittel bei RA. 20 cm minimale Zuckung, nicht besser bei RA. 0 cm.

---

1) M. J. Rossbach und Th. Clostermeyer, Einwirkung d. Curare, Guanidin und Veratrin auf d. lebenden Warmblütermuskel. Pharmakologische Untersuchungen, Würzburg, Bd. 3 (1879) S. 10.

nimmt. Nachträglich fand ich, daß schon Rossbach[1]) sowohl im Curare, wie beim Guanidin Steigerung der Leistungsfähigkeit ı Warmblütermuskel nachgewiesen hat.

Curarewirkung des Guanidins läßt sich nicht nur am lebenden osch, sondern, wie Versuch 15 zeigt, auch am isolierten Nervmuskel-lparat nachweisen.

Im allgemeinen wird der Eintritt der Lähmung, bei gleicher se, am lebenden Tier rascher zustande kommen als am ausge-hnittenen Präparat. Injiziert man einer Esculenta von 50 g l g Guanidiniumchlorid, so ist das Tier gewöhnlich nach rei Stunden peripher gelähmt. Legt man ein Nervmuskelpräparat eine entsprechende Guanidinlösung (1 : 500), so dauert es hier t mehr wie doppelt so lang.

Versuch 15. Curarewirkung am Nervmuskelpräparat.

18. VI. 07. Rana esculenta, 50 g, lebhaftes gesundes Tier. Zwei rvmuskelpräparate hergestellt. Nerv an der Wirbelsäule abgeschnitten. Ringerlösung gelegt. Nerv auf Elektrode über der Flüssigkeit ge-zt. Muskel direkt auf der Elektrode gereizt.

I. Nerv ERSchw. im prox. Drittel bei RA. 70 cm, im distal. (Knie) ittel bei RA. 60 cm.

II. Nerv ERSchw. im prox. Drittel bei RA. 62 cm, im distal. nie) Drittel bei RA. 52 cm.

10.39. In GCl. 1,1 : 500 Ringerlsg. beide Präparate eingelegt.

10.44. Zuckungen beginnen.

10.50. Noch schwache Zuckungen.

10.52. Zuckungen vollständig vorüber.

10.55. I. ERSchw. RA. 53—55 cm prox. Dr. 61—62 cm distal. Dr.

II. ERSchw. RA. 62—64 cm prox. Drittel, 49—52 cm distal. Drittel. e Gegenwart des Guanidins im Muskel bewirkt, daß die Schwellen-rte für die Reizung schwankend sind. Die Präparate werden während r Pausen in zugedeckter Schale bei 19° aufbewahrt.

11.55. Wie 10.55.

3.00. I. Keine Reaktion vom Nerven aus zu erzielen. Direkt izbar bei RA. 24 cm.

II. Nur im distal. Drittel bei RA. 7—0 cm schwache Zuckung. rekt reizbar bei RA. 23 cm.

3.15. Präparate zwei mal mit Ringerlösung gut abgespült, dann 50 ccm Ringerlösung im Eisschrank aufbewahrt.

4.15. I. Noch keine Zuckung vom Nerven aus, doch manchmal hwache spontane Zuckungen.

II. Im distal. Drittel bei RA. 20 cm minimale Zuckung, nicht besser i RA. 0 cm.

---

1) M. J. Rossbach und Th. Clostermeyer, Einwirkung d. Curare, ıanidin und Veratrin auf d. lebenden Warmblütermuskel. Pharmakologische ıtersuchungen, Würzburg, Bd. 3 (1879) S. 10.

4.20. Frische Ringerlösung. Eisschrank.

5.20. Frische Ringerlösung. Ueber Nacht Präparate in Eisschrank,

19. VI. 07. 9.00. I. E. R. RA. 0 cm im prox. Drittel wirkungslos. im dist. Drittel bei RA. 28 cm wirksam.

II. ER. bei RA. 44 cm. im prox. Drittel, bei RA. 42 cm im distalen Drittel wirksam.

Aus Versuch 14 und 15 ist zu ersehen, daß die Curarelähmung des Guanidins ein reversibler Vorgang ist, wie diejenige des Curarins. Die Reversibilität des Vorgangs läßt sich aber am lebenden Tier nur bei solchen Produkten mit Curarewirkung demonstrieren, bei welchen die periphere Lähmung der zentralen voraufgeht. Ein durch Guanidin peripher gelähmter Frosch erholt sich jedenfalls, im Gegensatz zu einem mit Curarin gelähmten, nicht wieder.

V. Der Angriffsort des Guanidins.

In der eingangs zitierten „Croonian Lecture" und in einer früheren im Journal of Physiology erschienenen Arbeit beschreibt Langley seine Beobachtungen über den gegenseitigen Antagonismus von Nikotin und Curare nach Versuchen an Hühnern und Kröten.

Von dem von Langley benutzten Curare sind, nach seiner Angabe, 15 mg zur motorischen Lähmung eines Huhns nötig. Ein Huhn, welches mit 10 mg Curare behandelt wurde, zeigt nach Injektion von 1 mg Nikotin kaum mehr die sonst durch diese Menge zustandekommende tonische Kontraktion der Muskeln. Umgekehrt kann die tonische Nikotinkontraktion durch Curare beseitigt werden. Da dieser Versuch auch gelingt nach anatomisch nachgewiesener Degeneration der intramuskularen Nervenenden, so muß nach Langley sowohl Nikotin, wie Curare im Muskel selbst angreifen, und da die kontraktile Substanz des Muskels intakt bleibt, so nimmt der Autor eine „receptive substance" im Muskel als Angriffsort der Wirkung beider Alkaloide an.

Erscheint nach diesen Versuchen eine direkte Wirkung von Nikotin und Curare auf Teile des Muskels, vielleicht auf das Sarkoplasma, sichergestellt[1]), so ist anderseits aus Langleys Versuchen

---

1) Bedauerlicherweise hat Langley seine Versuche mit Curare, statt mit dem Alkaloid Curarin angestellt. Bei dem hohen Kaligehalt der Rohdroge ist es nicht ausgeschlossen, dass die von Langley beobachtete Curarewirkung eine Kaliwirkung ist, namentlich da Langley bei seinen großen Curaredosen gleichzeitig mit der Wirkung auf den Skelettmuskel Herzwirkung beobachtet hat. Um zu entscheiden, was bei der von Langley beschriebenen Curarewirkung Kaliwirkung, was Alkaloidwirkung ist, müssen die in Frage stehenden Versuche mit Curarin (Böhm) wiederholt werden.

kein Beweis zu entnehmen gegen eine Nervenendwirkung dieser Substanzen.

Wie oben erwähnt lassen sich die Schwierigkeiten, welche einer Bestimmung der Lokalisation der Curarewirkung entgegenstehen, dadurch umgehen, daß man zu diesem Zwecke nicht das ausschließlich lähmende Curare oder besser Curarin, sondern ein erst peripher erregendes Produkt mit Curarewirkung verwendet. Meine nachstehend wiedergegebenen Versuche an Fröschen mit Guanidin werden die Richtigkeit dieser Anschauung dartun. Bewiesen habe ich allerdings nicht, daß die auf die periphere Guanidinerregung folgende periphere Lähmung an derselben Stelle, wie die erstere angreift. Immerhin dürfte die Annahme eines gleichen Angriffsortes am nächstliegenden und einfachsten sein. Mit Sicherheit scheint mir jedenfalls aus meinen Versuchen hervorzugehen, daß die erregende Wirkung des Guanidins am motorischen Nervenende angreift.

Diesen Nachweis suchte ich durch die folgenden Methoden zu erbringen: Einmal durch Untersuchung der Guanidinwirkung nach Ischiadicus-Degeneration, ferner durch Prüfung der Wirkung des Elektrotonus auf die Guanidinzuckungen, dann durch teilweises Einhängen unverletzter Sartorien in Guanidinlösungen.

Zunächst lassen sich für das Guanidin vermittelst der auch von Langley gebrauchten Nervendegenerationsmethode Aufschlüsse über den Ort seiner Wirkung erhalten. In meinen Versuchen zeigte sich, daß nach Degeneration des Nerven keine typischen Guanidinzuckungen mehr in den zugehörigen Muskeln auftreten.

Ich übergebe meine während der Wintermonate, in welchen, wie Bethe[1]) angibt, die Nervendegeneration an Fröschen sehr langsam fortschreitet, angestellten Versuche und bespreche gleich diejenigen an Sommerfröschen. Während ich an Winterfröschen erst vollständige Nervendegeneration abwarten wollte, bevor ich Versuche mit Guanidin an den Tieren vornahm, prüfte ich an den operierten Sommerfröschen, schon einige Tage nach der Operation beginnend, die fortschreitende Degeneration durch Einlegen der Muskeln in Guanidinlösungen.

Am 21. V. 07 exzidierte ich achtzehn mittelgroßen männlichen Esculenten 1—2 mm des Ischiadicus in der Mitte des Oberschenkels.

1) A. Bethe, Allgemeine Anatomie und Physiologie des Nervensystems Leipzig, 1903. S. 158.

Die Hautwunde wurde vernäht. Die Tiere hielten sich in einem Becken mit beständig durchfließendem Wasser sehr gut. Es starben davon nur zwei Stück und zwar einige Tage nach der Operation.

Ich wollte vor allem feststellen, von welchem Zeitpunkt an sich Unterschiede an den Gastrocnemien und Fußmuskeln der gesunden und operierten Seite, Guanidinlösungen gegenüber, zeigen.

1. Nach 4 Tagen (d. 25. V.) wurde der erste Frosch getötet. Dieser zeigte Zuckungen vom peripheren Ischiadicustumpf aus bei RA. 63 cm (Schwellenreiz). Vom gesunden Nerven aus bei RA. 58 cm. Der normale Gastrocnemius zuckte in GCl. 1 : 2000 nach 7, der andere nach 8 Minuten. Die Zuckungen im Muskel der operierten Seite waren deutlich schwächer als auf der normalen Seite.

2. Nach 6 Tagen (d. 27. V.) zweiter Frosch. Reizbar: Oper. Isch. 64, normal. 55 cm. Beide Muskeln zucken in GCl. 1 : 2000 nach 7—8 Minuten. Auch Füße zeigen keine nennenswerten Unterschiede.

3. Nach 11 Tagen (d. 1. VI.) dritter Frosch. Guanidinlösung 1 : 1000. Nach 8 Minuten zuckt der normale Muskel, nach 22 Minuten hat der Muskel des operierten Beins noch nicht gezuckt. In Ringerlösung übertragen zuckt der normale Muskel kräftig, der andere minimal. Diese Muskeln, in isotonische Lösung von Natriumperchlorat übertragen, zeigen hierin dieselben Unterschiede.

4. Nach 13 Tagen (d. 3. VI.) vierter Frosch. Zeigt keine nennenswerten Unterschiede.

5. Nach 13 Tagen (d. 3. VI.) fünfter Frosch. Sehr lebhaftes, gesundes Tier. Reizbar: Oper. Isch. 56, normal. 69 cm. Guanidinlösung 1 : 1000. Nach 3 Minuten zuckt normaler Gastrocnemius, nach 8 Minuten normaler Fuß. Nach einer halben Stunde alle Teile in Ringerlösung übertragen. Gastrocnemius und Fuß der operierten Seite zeigten weder in der Guanidin- noch in der Ringerlösung eine Spur von Zuckungen.

6. Nach 16 Tagen (d. 6. VI.) sechster Frosch. Reizbar: Oper. 57, normal. 59 cm. GCl. 1 : 1000. Normaler Gastrocnemius, zuckt nach 8 Minuten, Muskel der operierten Seite nach 20 Minuten keine Zuckung. Zeigt später in Ringerlösung minimale Zuckungen. Normaler Fuß zuckt nach 5, der andere nach 10 Minuten.

7. Nach 16 Tagen (d. 6. VI.) siebenter Frosch. Reizbar: Oper. 73, normal. 72 cm. GCl. 1 : 1000. Normaler Muskel nach 7 Minuten starke Zuckungen, Muskel der operierten Seite nach 6 Minuten minimale rhythmische Zuckungen 5 Minuten lang anhaltend, dann Ruhe; diese regelmäßigen Schläge werden in Ringerlösung etwas stärker. Normaler Fuß zuckt nach 4 Minuten, der andere nach 5 Minuten, doch Zuckungen in letzterem bleiben vereinzelt.

8. Nach 18 Tagen (d. 8. VI.) achter Frosch. Reizbar: Oper. 67, normal. 58 cm. GCl. 1 : 1000. Normaler Muskel zuckt nach 9 Minuten, der andere zeigt nach 7 Minuten eine einzige Zuckung, die sich später nicht wiederholt. Hingegen in Ringerlösung noch einige Schläge. Beide Füße zucken nach 5 Minuten. Doch starker Unter-

schied in der Intensität. Fuß der operierten Seite nur minimale Schläge.

9. Nach 18 Tagen (d. 8. VI.) neunter Frosch. Oper. 68, normal. 56 cm. GCl. 1 : 2000. Normaler Muskel zeigt nach 7 Minuten kräftige Zuckungen, normaler Fuß nach 6 Minuten. Muskel und Fuß der operierten Seite zucken während 35 Minuten weder in Guanidin- noch später in Ringerlösung.

10. Nach 22 Tagen (d. 12. VI.) zehnter Frosch. Reizbar: Oper. 44, normal. 42 cm. Tier nicht lebhaft. GCl. 1 : 1000. Normale Organe zucken nicht sehr kräftig in Guanidin-, besser in Ringerlösung. An Muskeln der operierten Seite keine Zuckung beobachtet.

11. Nach 22 Tagen (d. 12. VI.) elfter Frosch. Reizbar: Oper. 0 keine Zuckung, normal. 61 cm. Versuch mißlungen.

12. Nach 45 Tagen (d. 5. VII.) zwölfter Frosch. Tier lebhaft. Zieht operiertes Bein normal an. Reizbar: Oper. 0, normal. 67 cm. GCl. 1 : 1000. Normaler Muskel zuckt nach 8 Minuten, Muskel der operierten Seite zeigt von Anfang an in der Lösung minimale rhythmische Zuckungen der Achillessehne, später auch der Muskelsubstanz. Ebenso auch in Ringerlösung. Normaler Fuß zuckt nach 4 Minuten, der andere in Guanidin und Ringer absolut bewegungslos.

13. Nach 45 Tagen (d. 5. VII.) dreizehnter Frosch. Verhalten genau wie zwölf.

14. Nach 52 Tagen (d. 12. VII.) vierzehnter Frosch. Reizbar: Oper. 0, normal. 67 cm. GCl. 1 : 1000. Normaler Muskel zuckt nach 7 Minuten, Muskel der operierten Seite zeigt von Anfang an schwache rhythmische Zuckungen. Diese in Ringerlösung etwas verstärkt. Normaler Fuß beginnt nach 4 Minuten zu zucken, der andere zeigt keine Spur von Zuckungen.

15. Nach 64 Tagen (d. 24. VII.) fünfzehnter Frosch. Lebhaft. Zieht Bein an, Fuß nicht. Reizbar: Oper. 0, normal. 49 cm. Operierte Seite, Muskel kleiner als auf der normalen Seite. Muskeln mit Ansatz präpariert. Muskel der operierten Seite zeigt beständige Unruhe in der Ringerlösung. In GCl. 1 : 2000. Unruhe des letzteren nimmt zu, gleich beim Einbringen in die Guanidinlösung. Fortwährendes Zittern des Knieendes und rhythmische kleine Schläge der Achillessehne. Normaler Muskel zuckt nach 10 Minuten. Nach 30 Minuten in Ringerlösung. Hier Zuckungen des Muskels der operierten Seite verstärkt, arhythmisch, typische Guanidinzuckungen. Die des normalen Muskels natürlich kräftiger. Normaler Fuß zuckt in Guanidin nach 13 Minuten, der andere zeigt weder in der Guanidin-, noch später in der Ringerlösung Zuckungen. In einer Mischung gleicher Teile isotonischer Natriumperchlorat-, und Ringerlösung zuckt der Gastrocnemius der operierten Seite gut, der normale aber kräftiger. Der Fuß der operierten Seite zeigt in dieser Lösung nur minimalste, der normale sehr starke Zuckungen.

16. Nach 64 Tagen (d. 24. VII.) sechzehnter Frosch. Mit Ansatz präparierte Gastrocnemii. Nicht elektrisch gereizt. Gastrocnemius der operierten Seite zuckt in Ringerlösung nicht. Nach 10 Minuten beide Muskeln in GCl. 1 : 1000 gebracht. Nach 3 Minuten

beginnen im Muskel der operierten Seite kleine Zuckungen, die allmählich stärker werden. Nach 8 Minuten beginnt der normale Muskel zu zucken. Die rhythmischen Schläge der Sehne des anderen Muskels sind in dieser Zeit ziemlich kräftig geworden und das Knieende beginnt zu zucken. Nach 20 Minuten sind die Zuckungen so kräftig geworden, wie sie bisher nicht an den Muskeln der operierten Seite nach dem 18. Tage beobachtet wurden. In Ringerlösung sind die Zuckungen verstärkt, ebenso in Natriumperchloratlösnng. Der normale Fuß zuckt nach 5 Minuten in der Guanidinlösung, der andere weder in der Guanidin-, noch später in der Ringerlösung. Nur in der Perchloratlösung zeigt er minimales Zittern während der Ausbildung der Kontraktur.

Diese Versuche zeigen, daß die Guanidinreizung am Gastrocnemius ein ganz anderes Bild der fortschreitenden Nervendegeneration gibt, als die elektrische Reizung. Die elektrische Reizung kann, wie bei Frosch 5 und 7, noch normale oder nahezu normale Schwellenwerte aufweisen, während die Guanidinlösungen vollständig unwirksam erscheinen. Interessant ist dann die Umkehrung des Bildes in den späteren Versuchen. Der Muskel ist vom Nerven aus vollständig unerregbar, zeigt hingegen schwache Guanidinzuckungen, welche erst rhythmisch sind, aber bei den zuletzt, nach 64 Tagen untersuchten Fröschen, wieder den Charakter typischer Guanidinzuckungen erreicht haben. Ich erkläre mir diese Erscheinungen folgendermaßen:

Die elektrische Reizung ist offenbar noch wirksam, auch wenn nur noch wenige, wohl mehr in den inneren, tieferen Teilen des Muskels gelegene Nervenenden erhalten sind, während die Guanidinreizung nur erfolgreich ist beim Vorhandensein einer genügenden Anzahl hauptsächlich an der Peripherie des Muskels gelegener Nervenenden. Mit der schrittweisen Verminderung der Zahl der motorischen Nervenenden geht die Guanidinwirkung progressiv zurück, die elektrische Reizung fällt hingegen etwa nach 20 Tagen (s. Frosch 10 und 11) plötzlich ab, wenn die letzten Enden funktionsunfähig geworden sind.

Die am 16. Tage erstmals beobachteten rhythmischen Zuckungen, welche in späteren Versuchen stärker auftreten und schließlich den Charakter typischer Guanidinzuckungen annehmen, während die elektrische Reizung des Nerven dauernd unwirksam bleibt, könnten eine allmählich zunehmende pathologische Reaktion der Muskelsubstanz (s. u.) darstellen, oder, was ich für wahrscheinlicher halte, auf eine mit der fortschreitenden Degeneration, unabhängig vom Zentrum, in der Peripherie einsetzende Regeneration[1]) zurückzuführen sein. Eine

1) Vgl. O. Schultze, Weiteres zur Entwickelung der peripheren Nerven. Verh. d. physik. med. Ges. Würzburg. N. F. Bd. 37 (1905) S. 267.

Entscheidung hierüber ist wohl durch, den Guanidinversuchen parallel gehende, histologische Untersuchung möglich.

Analog sind auch die früher erwähnten in Fig. 6 noch auftretenden „spontanen Zuckungen“ zu erklären, welche sich einstellten, nachdem elektrische Nervenreizung keine Zuckung im Muskel mehr auslöste und ebenso die Beobachtungen in Versuch 15.

In der starken Lösung treten anfänglich Guanidinzuckungen auf, welche aber bald vorübergehen; das Präparat zeigt dann, trotz reichlich vorhandenen Guanidins, keine Zuckung mehr in dieser Lösung. Dabei ist es vom Nerven aus noch normal reizbar. Dies beweist, daß die äußersten Nervenenden, an der Peripherie des Muskels, die erst durch das Guanidin erregt wurden, schon Guanidinlähmung zeigen, während zentraler gelegene Nervenenden noch nicht vom Guanidin ergriffen sind und darum die elektrische Reizung noch wirksam ist. Der umgekehrte Vorgang zeigt sich dann nach eingetretener vollständiger Lähmung des Muskels, gegenüber indirekter elektrischer Reizung. Legt man ihn in diesem Zustande wieder in Ringerlösung, so zeigen sich, trotzdem derselbe noch stundenlang indirekt elektrisch unerregbar ist, bald nach dem Einlegen in Ringerlösung leichte Guanidinzuckungen. Das Guanidin wird aus den oberflächlichen Muskelschichten rasch z. T. ausgelaugt und ist dann wieder in einer das Nervenende erregenden Konzentration vorhanden.[1])

Auf dieselbe Tatsache ist die registrierte Erscheinung zurückzuführen: Hier hat bei der Präparation, welche unter öfterem Befeuchten mit Ringerlösung ausgeführt wurde, oberflächliche Auslaugung des Guanidins aus dem Muskel stattgefunden und Guanidinerregung gelangt so neben der Guanidinlähmung zur Beobachtung.

Bekanntlich leidet nach Nervendurchschneidung auch die zugehörige Muskulatur. Doch da dieselbe nach Langley noch normal gegenüber dem Antagonismus von Nikotin und Curare reagiert, hingegen nicht mehr auf Guanidin, so muß der Angriffsort der erregenden Guanidinwirkung notwendig ein anderer sein, als derjenige dieser Curarewirkung und das Nächstliegende wird wohl sein, für sie die rasch degenerierende Nervenendigung anzunehmen.

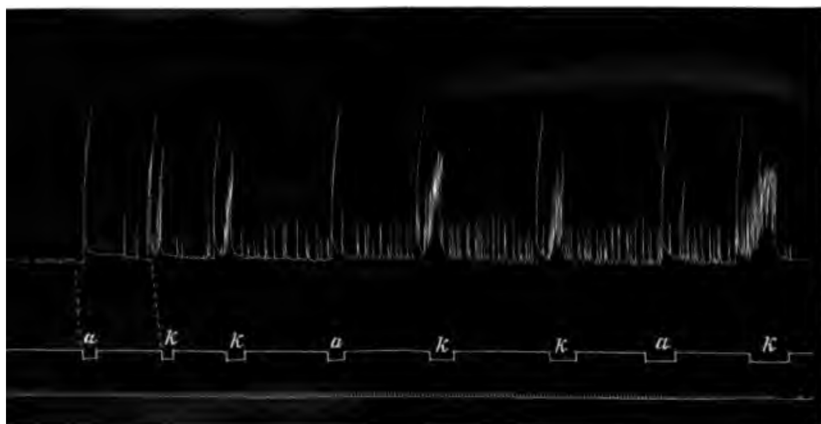
Ein weiterer Beweis für die Nervenwirkung des Guanidins kann in folgender Tatsache erblickt werden: Es gelingt unter bestimmten Bedingungen am Nervmuskelpräparat Guanidinzuckungen

1) Obiger Erklärungsversuch involviert für die erregende Guanidinwirkung die Annahme einer am motorischen Nervenende peripherer gelegenen Angriffsstelle, als für die lähmende Wirkung. Ich gedenke auf diese Frage in einer späteren Untersuchung zurückzukommen.

ırch den im Nerven aufsteigenden polarisierenden Strom, den nelektrotonus, zu unterdrücken. Doch da ein Übergreifen von Strom- ;hleifen auf den Muskel, wie schon C. Eckhard hervorhob, nicht bsolut auszuschließen ist[2]), so lege ich diesen Versuchen geringere eweiskraft für einen nervösen Angriffspunkt des Guanidins bei.

Ich habe meine Beobachtungen nur an Esculenten weiter ver- ılgt. Um bei Temporarien und Kröten entsprechende Resultate zu er- alten, müssen jedenfalls die Versuchsbedingungen modifiziert werden.

Bei Rana esculenta konnte ich regelmäßig eine Beeinflussung er Guanidinzuckungen durch den konstanten im Nerven auf- oder bsteigenden Strom feststellen. Meine Versuchsanordnung war ılgende:



ig. 11. R. escul. ♂, 60 g. Achsenbel. 20 g. Hebelvergr. 6 fach. Zeitmark. 1 Sek. G. Cl. 1,1 : 1000. a = An-, k = Katelektrotonus; k wirksam. (24. V. 07.)

Ein Nervmuskelpräparat einer großen Esculenta wurde am Sehnen- ıde mit einem Häkchen versehen und durch dieses in einer Öse am oden eines Becherglases von 50 ccm fixiert. Am Kopfende des uskels wurde der Knochen mit einem feinen Draht durchbohrt der ach oben in einen zweiarmigen Schreibhebel eingehakt wurde. Bei ner Achsenbelastung von 20—30 g war der Muskel ziemlich schlaff dem erst mit Ringerlösung gefüllten Becherglas aufgehängt. An der eite des Becherglases waren zwei unpolarisierbare Stiefelelektroden mit cm intrapolarer Nervensfrecke und die nächste 1,5 cm vom Muskel ıtfernt angebracht. Nachdem der Nerv über die Elektroden gelegt war, ım das Becherglas in eine größere feuchte Kammer, welche von unten ɜr mit Eis gekühlt wurde und deren Wände innen mit nassem Filtrier- ıpier belegt waren. Der Deckel der Kammer bestand aus einer Glas

2) Vergl. auch F. Schenck, Kleinere Notizen zur allgem. Muskelphysiologie lügers Arch. 79 (1900) S. 333.

platte mit zwei runden Löchern für den Durchtritt der Drähte zu den Elektroden und dem Schreibhebel. Diese Deckelöffnungen wurden, soweit möglich, mit feuchtem Filtrierpapier verschlossen. Zum Umwechseln der Lösung in dem Becherglas gingen durch das eine Loch des Deckels zwei Glasröhren; durch die erste wurde dem Becherglas Flüssigkeit zugeführt, durch die andere wurde sie abgesaugt. Als am besten geeignet für die Versuche erwies sich ein Kettenstrom von 8 Volt (4 Akkumulatoren). Versuche mit stärkeren Strömen ergaben keine günstigeren Resultate.

Die Versuche wurden im Mai 1907 ausgeführt. Die Temperatur der Lösungen in der Kammer stieg nicht über 18°. Die gebrauchte Lösung von salzsaurem Guanidin hatte eine Konzentration von 1,1 :1000. Das Nervmuskelpräparat wurde bis zur Einmündung

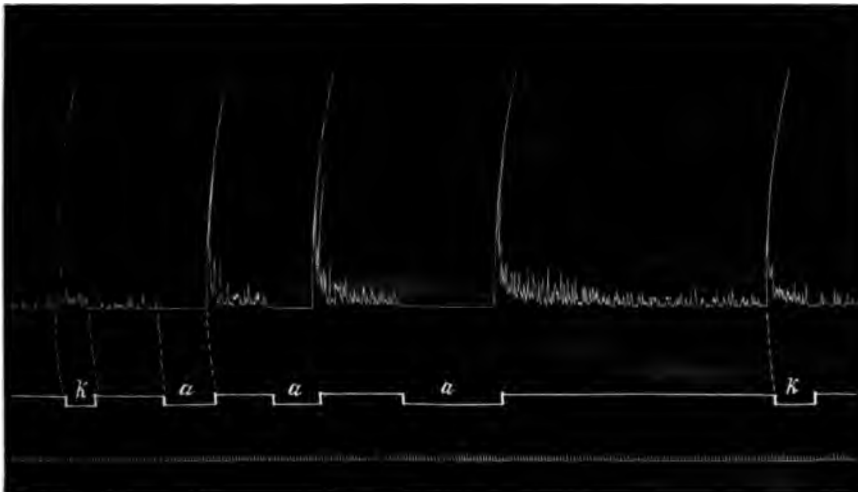


Fig. 12. R. escul. ♂, 52 g. Achsenbel. 20 g; Hebelvergr. 5fach. Zeitmark. 1 Sek. G. Cl. 1,1 : 1000. a = An-, k = Katelektrotonus. a wirksam. (9. V. 07.)

des Nerven in die Lösung eingetaucht. Nachdem die Guanidinzuckungen begonnen hatten, wurde der auf- und absteigende Strom durch den Nerven geleitet. Die Beeinflussung der Guanidinzuckungen durch den ersteren war während dieser Periode des Versuchs immer schwach; hingegen war deutlich gerade in dieser Zeit eine Wirkung des Katelektrotonus sichtbar, die sich, wie Fig. 11 zeigt, in einer beträchtlichen Zunahme der Zahl der Zuckungen und Erhebung über die Abszisse äußert. In dieser Guanidinlösung blieb der Muskel unter wiederholter Nervenreizung eine halbe Stunde lang und kam dann in Ringerlösung. Hier wurde abwechselnd und wiederholt die Wirkung des An- und Katelektrotonus geprüft. Erst nachdem der

Muskel etwa eine halbe Stunde in der Ringerlösung war, erwies sich der Anelektrotonus als kräftig wirksam, und in günstigen Fällen, wie ihn Fig. 12 wiedergibt, bekam ich vollständige Unterdrückung der vorher kräftigen Zuckungen. Erwähnt sei noch, daß der unter den angegebenen Bedingungen vollkommen wirksame Anelektrotonus gegenüber verstärkten Guanidinzuckungen, die durch Entfernen der Ringerlösung, also in feuchter Luft, hervorgebracht wurden, sich wieder als nahezu unwirksam erwies.

Für beweisender für einen nervösen Angriffsort des Guanidins, als diese Beobachtungen, halte ich folgenden einfachen Versuch.

Hängt man einen unverletzt präparierten Sartorius einer Temporaria in einer feuchten Kammer mit dem spitzen Knieende etwa den sechsten Teil seiner Länge oder mit dem breiten Beckenende etwa ein fünftel derselben in eine Guanidinlösung 1 : 2000, so wird man keine Zuckungen beobachten. Wird obige Grenze überschritten und der Muskel ein Viertel seiner Länge am Knie-, ein Drittel am Beckenende in die Lösung eingehängt, so treten im Verlauf von 15—20 Minuten Guanidinzuckungen auf. Hängt man Gastrocnemien hingegen am oberen oder unteren Ende nur etwa 2 mm tief mit der Muskelsubstanz in dieselbe Lösung, so bekommt man regelmäßig Guanidinzuckungen. Ich habe diese Versuche verschiedentlich variiert. An Gastrocnemien wurde die Achillessehne abgeschnitten und der Stumpf fest mit einem Faden abgeschnürt und doch zuckte die etwa 2 mm tief eingehängte Muskelmasse. Die Zuckungen am Gastrocnemius bleiben, namentlich am Kopf desselben, lange Zeit lokal. Sartorien habe ich sowohl mit dem Knochenansatz an Knie und Becken, wie ohne diesen mit gleichbleibendem Ergebnis eingehängt. Ich gebe nachstehend die Beschreibung eines Versuches.

Versuch 16. Muskeln partiell in Guanidinlösung.

11. VI. 07. Vor kurzem gefangene R. fusca von 26 g. Zwei Sartorien ohne Ansatz präpariert. Beckenende glatt abgeschnitten. Länge 2,7 cm. An feinen Seidenfäden angebunden. Nach der Präparation 20 Minuten in Ringerlösung eingelegt. Temperatur der Lösungen 19°. Lösung von Guanidiniumchlorid 1,1 : 2000.

10.17. Muskel mit Beckenende $^1/_5$ seiner Länge eingehängt.

10.19. Muskel mit Knieende $^1/_6$ seiner Länge eingehängt.

Innerhalb 40 Minuten keine Spur von Zuckungen zu beobachten.

10.57—59. Beide je etwa $^1/_3$ (Beckenende etwas mehr) eingehängt.

11.03. Beide fast gleichzeitig (4—6 Min. später) Zuckungen, die bald kräftig werden.

11.37. Gastrocnemius desselben Frosches mit Kopfende 2 mm tief eingehängt.

11.39. Gastrocnemius mit Sehnenende 2 mm der Muskelmasse eingehängt.
11.46. Kopfende zuckt. (Nach 9 Min.)
11.49. Sehnenende zuckt. (Nach 10 Min.) Beide anfangs streng lokale Zuckungen.
1.10. Zuckungen des Kopfes noch lebhaft, der Sehne gering.
3.00. Kopf zuckt noch gut lokal, Sehne schwach.

Zu diesen Versuchen eignen sich Sartorien von Esculenten, wenigstens in den Frühjahrsmonaten, nicht so gut wie diejenigen von Temporarien, da ihre Guanidinzuckungen weniger regelmäßig auftreten. Sonst zeigen sie aber dieselben Erscheinungen. In wieweit bei diesen Versuchen, die immer in einer sorgfältig feucht gehaltenen Kammer ausgeführt wurden, ein Emporsteigen der Guanidinlösung am Muskel nach der Nerveneinmündungsstelle zu in Betracht kommt, läßt sich nicht genau angeben. Bedeutend kann dasselbe nach meinen Versuchen nicht sein.

Für die hier beschriebenen Beobachtungen weiß ich keine andere Erklärung zu geben, als daß das Guanidin nicht erregend auf die Muskelsubstanz, sondern auf den Nerven wirkt, und zwar muß dies das Nervenende sein, denn wie mich Versuche lehrten, bekommt man beim Einlegen des Nervenstammes in Guanidinlösungen (1 : 100 — 1 : 1000) keine Guanidinzuckungen.

Wie Kühne[1]) nachgewiesen hat, ist der Sartorius in seinen Enden nervenlos. Neuere histologische Untersuchungen über den Gegenstand liegen m. W. nicht vor. Aber selbst wenn vereinzelte Nervenverzweigungen in den Enden des Froschsartorius nachgewiesen werden sollten, so bleibt nach Kühnes Versuchen doch eine große physiologische Differenz des Muskelendes und der der Nerveneinmündung näherliegenden Teile bestehen, welche am besten verständlich erscheint auf Grund verschieden guter Innervation.

Die hier angewandte Methode unterscheidet sich von der von Kühne für „chemische Muskelreize“ angewandten durch Verwendung unverletzter Sartorien, wobei die von Hering und Biedermann[2]) studierten Verletzungsströme nicht störend eingreifen.

Genannte Beobachtungen an Froschsartorien halte ich für den derzeitig besten Beweis einer Nervenwirkung des Guanidins.

Erscheint demnach, wie seit Gergens und Baumanns

1) W. Kühne, Myologische Untersuchungen. S. 61 sq.

2) E. Hering und W. Biedermann, Beiträge zur allgemeinen Muskel- und Nervenphysiologie, 1—23. Wiener Sitzungsber. 1879—1889. Namentl. I. Mittlg. E. Hering, Über direkte Muskelreizung durch den Muskelstrom. (1879) S. 7.

Untersuchung schon angenommen wurde, das Nervenende als Angriffsort für die erregende Guanidinwirkung, so ist kein Grund vorhanden, die lähmende Wirkung an eine andere Stelle zu verlegen.

Vorausgesetzt, daß Langleys Versuche, mit Curarin (Böhm) wiederholt, dasselbe Resultat, wie mit Curare zeigen (vergl. S. 34, Anm. 1) so würde sich aus diesen und meinen Versuchen als einfachster Schluß ergeben, daß die Produkte mit Curarewirkung nahezu gleichzeitig das motorische Nervenende und einen Teil des Muskels (Sarkoplasma?) angreifen.

VI. Beziehungen zwischen chemischen Eigenschaften und pharmakologischer Wirkung.

Bei allen bisher in dieser Richtung geprüften basischen Nervengiften hat sich ergeben, daß sie die motorischen Nervenenden früher lähmen, als den Nervenstamm, eine Tatsache, welche auf Grund der anatomischen Verhältnisse leicht verständlich ist und es erscheint darum eine „Curarewirkung im weiteren Sinne" eine sehr verbreitete, wenn nicht allgemeine Eigenschaft basischer Nervengifte zu sein.

Wird eine tertiäre Stickstoffverbindung (durch Methylierung) in eine quartäre übergeführt, so tritt, wie schon Tillie[1]) und auch Santesson[2]) betont haben, Curarewirkung nicht erst auf, sondern sie wird nur mehr in den Vordergrund der Wirkung geschoben und gewinnt an Intensität.

Bedingt wird diese Veränderung im Wirkungstypus durch Veränderung der physikalisch-chemischen Eigenschaften beim Übergang des Stickstoffs aus dem tertiären in den quartären Zustand. Pharmakologisch kommt hier vor allem die außerordentliche Zunahme der Basizität der Verbindungen in Betracht, worauf zurückzuführen ist, daß die Substanzen den Charakter der anorganischen Alkalien annehmen, leicht in den Harn übergehen und vom Magen aus weniger giftig sind, als bei subkutaner Applikation und im Zusammenhang damit das Unlöslichwerden in Äther und in Fetten, wodurch das Zurücktreten der zentralen Wirkung verständlich wird.

Für das Auftreten isolierter, „typischer Curarewirkung" scheint die hohe Basizität, die starke Ionisierungstendenz in wässeriger Lösung Vorbedingung zu sein.

---

1) J. Tillie, Ueber die Wirkungen des Curare u. s. Alkaloide. Dieses Arch. 27 (1891) S. 21

2) C. G. Santesson, l. c. S. 27.

Wie eingangs erwähnt, hat H. Meyer schon 1902[1]) auf die entscheidende Bedeutung der Basizität am Beispiel der Phosphonium-, Arsonium- und Sulfoniumbasen für das Zustandekommen typischer Curarewirkung hingewiesen. Einige weitere Beispiele seien hier angeführt.

Das Methylamin ist stärker basisch als das Trimethylamin und besitzt nach Brunton und Cash[2]) auch stärkere Curarewirkung. Die stärkste basische Affinität und zugleich die stärkste Curarewirkung von den Methylaminen kommt bekanntlich der quartären Verbindung, dem Tetramethylammoniumhydroxyd bzw. seinen Salzen zu. Ist in letzterem eine Methylgruppe durch die negativierende Oxäthylgruppe ersetzt, so haben wir im Cholin eine schwache Base, mit nur schwacher Curarewirkung vor uns. Durch Oxydation entsteht aus diesem das synthetische Muskarin, welches nach Böhm[3]) etwa 500mal stärkere Curarewirkung als das Cholin und voraussichtlich auch stärker basische Eigenschaften besitzt. Seine Affinitätsgrößen sind leider noch nicht bestimmt worden. Durch weitere Oxydation entsteht aus dem Cholin das Betain. Infolge „innerer Salzbildung“ gehört dasselbe nach Bredigs Messungen zu den schwächsten Basen, die interessanterweise auch pharmakologisch nahezu indifferent ist, trotzdem sie dasselbe quartär an Kohlenstoff gebundene Stickstoffatom wie Cholin, Muskarin und Tetramethylammoniumhydroxyd besitzt.

Sehr wichtig zur Erkenntnis der Beziehungen zwischen pharmakologischer Wirkung und chemischer Konstitution sind die in neuerer Zeit durch A. Werner[4]) und seine Schüler chemisch eingehend untersuchten Metallammoniake. Pharmakologisch sind früher die Platinverbindungen durch F. Hofmeister[5]) und neuerdings die Verbindungen des Kobalt durch J. Bock[6]) geprüft worden. Hierbei ergab sich, daß nur die Produkte typische Curarewirkung besitzen, welche die größte Zahl Ammoniakreste (sechs) enthalten. Diese sind

---

1) H. Meyer l. c.

2) Brunton und Cash zitiert nach C. G. Santesson und G. Koraen, Ueber d. Curarewirkung einiger einfacher Basen. Skandinav. Arch. 10 (1900) S. 218.

3) R. Boehm, Ueber d. Vorkommen u. d. Wirkungen d. Cholins u. d. Wirkungen d. künstlichen Muskarine. Dieses Arch. 19 (1885) S. 99.

4) A. Werner, Untersuchungen über anorgan. Konstitutions- u. Konfigurationsfragen. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 40 (1907) S. 15.

5) F. Hofmeister, Ueber die physiologische Wirkung der Platinbasen. Dieses Arch. 16 (1883) S. 293.

6) J. Bock l. c.

nun zugleich auch die stärksten Basen der betreffenden Reihe und in ihren Lösungen vollständig ionisierbar [1]).

Ich erwähne noch Pyridin und Piperidin, die beide große Unterschiede sowohl in ihrer Basizität, als entsprechend in der Stärke ihrer Curarewirkung (Santesson[2])) aufweisen. Daß aber die Basizität allein nicht genügt, um isolierte, typische Curarewirkung hervorzubringen, dies beweist schon das Zurückgehen der Wirkung beim Übergang vom Tetramethyl- zum Tetraäthylammoniumhydroxyd, der nach den vorliegenden Literaturangaben jedenfalls bedeutender erscheint, als der Unterschied der basischen Stärke beider Produkte, dies beweist aber vor allem das Guanidin. Dessen erster sich geltendmachender Angriffsort ist zwar ein peripherer, aber seine Curarewirkung tritt erst nach der zentralen Lähmung in die Erscheinung.

Wichtig ist, daß ebenso wie beim Tetramethylammoniumhydroxyd durch innere Neutralisation zum Betain die lähmende, so beim Guanidin bezw. Methylguanidin durch Übergang zum Kreatin (vergl. S. 5, Anm. 4) mit den stark basischen Eigenschaften auch die charakteristische erregende Nervenendwirkung verschwindet, trotzdem das Kreatin noch eine freie Amidogruppe und die Imidgruppe des Guanidins unverändert besitzt.

Wie das Beispiel des Guanidins in klarer Weise zeigt, ist die physikalisch-chemische Eigenschaft basischer Nervengifte, daß sie in ihren Lösungen als Basen so weitgehend wie Kali und Natronlösungen dissoziert sind, nur Vorbedingung für das isolierte Auftreten der Curarewirkung. Warum aber eine Substanz erst erregt, wie

1) Leider ist von den Metallammoniaken nur die Leitfähigkeit der Salze bekannt, welche keine Vorstellung gibt von der Stärke der freien Basen. Für die pharmakologische Wirkung kommt es aber einzig auf die Ionisierbarkeit der freien Basen, nicht z. B. der salzsauren Salze an. Dies zeigen in eklatanter Weise Methylamin und Tetramethylammonium. Von den salzsauren Salzen ist die Leitfähigkeit der wässerigen Lösung eine bessere beim Methylamin als bei der quartären Verbindung. Nur bei der wässerigen Lösung der freien Basen kommen die der pharmakologischen Wirkung entsprechenden hohen Differenzen des Dissoziationsgrades richtig zur Geltung. Bei den Metallammoniaken reduziert sich durch Eintritt von Wasser an Stelle von Ammoniak, gemäß der Abnahme der Curarewirkung, sicherlich die Stärke der freien Basen weit mehr, als dies bei den Leitfähigkeitsbestimmungen von Werner und seinen Schülern an den Salzen zum Ausdruck gelangt. Jedenfalls besitzen die Hexammin-(Luteo)basen zugleich mit der starken Curarewirkung auch den stärksten basischen Charakter von den bekannten Produkten.

2) C. G. Santesson und G. Koraen, l. c. S. 227.

das Guanidin oder sofort lähmt, wie das Curarin, läßt sich heute noch nicht klar erkennen.

Jedenfalls ist es von Bedeutung, daß sich in der pharmakologischen Wirkung von Kali und Natron derselbe Unterschied findet, wie bei den ihnen analog wirkenden Produkten Curarin und Guanidin und es wäre möglich, daß die verschiedene Molekulargröße oder die verschiedene Wanderungsgeschwindigkeit der Ionen mit diesen Unterschieden in ursächlichem Zusammenhange steht.

Zusammenfassung.

Lösungen von Guanidinsalzen rufen bei Fröschen erst periphere Erregung, dann zentrale Lähmung hervor, auf welche periphere Lähmung folgt.

Für isolierte Froschmuskeln sind zur Erzielung von lange andauernden Guanidinzuckungen Lösungen des salzsauren Guanidins (Guanidiniumchlorid) in Ringerlösung 1 : 2000 bis 1 : 4000 optimale Konzentrationen. In Lösungen 1 : 1000 hören, namentlich bei den empfindlichen Temporarienmuskeln, die Zuckungen nach einiger Zeit auf. Beim Übertragen in Ringerlösung treten in solch unbeweglich gewordenen Muskeln wieder maximale, an Stärke allmählich abnehmende Zuckungen auf. Muskeln, welche in Ringerlösung längst keine Zuckungen mehr zeigen, bekommen, an die Luft gebracht, in kurzer Zeit wieder lebhafte Zuckungen. Mit zunehmender Konzentration der Guanidinlösung nehmen die Zuckungen an Intensität ab und sind in 1prozentigen Lösungen schon minimal.

Eine Lösung von 1,1 Proz. Guanidiniumchlorid ist mit einer solchen von 0,7 Proz. Natriumchlorid äquimolekular und gleichzeitig isosmotisch. Muskeln, in diese Lösung eingehängt, zeigen darin, so lange sie leben, keine Gewichtsveränderung, verhalten sich hier also wie in Lösungen der anorganischen Elektrolyte.

Die Schädigung, welche ein Muskel in dieser Lösung erfährt, ist geringer, als in Lösungen von Kalium- und Ammoniumchlorid, aber bedeutender, wie in Natriumchloridlösungen. Durch Zusatz von Calciumchlorid kann die schädigende Wirkung der reinen Guanidinsalzlösung, wie diejenige der anorgänischen Alkalisalze verringert werden.

Wie die in Kochsalzlösung, so können die in Guanidinlösungen auftretenden Muskelzuckungen durch Calcium- und auch durch Magnesiumchlorid unterdrückt werden. Am isolierten Muskel sind in Lösungen von Guanidiniumchlorid 1 : 5000 auf ein Teil Guanidiniumchlorid

1,5—2,5 Teile wasserfreies Calciumchlorid zur Hemmung und Aufhebung der Guanidinzuckungen nötig.

Durch vorherige intramuskuläre Injektion von Calciumchlorid lassen sich lebende Frösche gegen das Auftreten von Guanidinzuckungen schützen. Vorhandene Guanidinzuckungen am lebenden Tiere werden in gleicher Weise unterdrückt.

Die pharmakologische Wirkung der Guanidinsalze ist als Wirkung des einwertigen Guanidiniumions aufzufassen, welches physikalisch-chemisch und pharmakologisch das organische Analogon des Natriumions darstellt. Wie die Natriumsalze steigern Guanidinsalze die Leistungsfähigkeit des Muskels und wie diese erzeugen sie Neigung zur Kontraktur.

Die Curarewirkung des Guanidins ist als solche am Nervmuskelpräparat eines peripher durch dasselbe gelähmten Frosches durch alleiniges Einlegen des Muskels in Ringerlösung nachzuweisen. Hierbei geht die periphere Lähmung zurück; sie kann darum nicht den Nervenstamm betreffen.

Bei einem noch nicht vollständig durch Guanidin gelähmten Frosche ist gesteigerte Erschöpfbarkeit der Nervenenden (Böhm) durch rhythmische elektrische Nervenreizung nachzuweisen. (Ermüdungsreihen.)

Der Muskel kann noch Guanidinzuckungen zeigen, trotzdem er vom Nerven aus unerregbar geworden ist. Guanidinlähmung und -Erregung können nebeneinander bestehen.

Die Guanidinwirkung läßt sich als eine Nervenwirkung charakterisieren durch den Nachweis, daß sie nach Nervendegeneration nicht mehr auftritt, daß sie durch den Anelektrotonus unterdrückt werden kann, und daß die nervenfreien Frosch-Sartoriusenden keine Guanidinzuckungen zeigen. Sie ist eine Nervenendwirkung, da beim Einlegen des Nervenstammes in Guanidinlösungen keine Muskelzuckungen auftreten.

Zur Feststellung des Angriffsortes der Curarewirkung wurde bisher nur Curare oder dessen Präparate verwandt. Den Angriffsort des Guanidins erschloß man aus der Aufhebung der Guanidinerregung durch Curare. Demgegenüber erscheint es einfacher, den Angriffsort des Guanidins auf Grund seiner erregenden Wirkung direkt zu bestimmen und da die Guanidinerregung bei größeren Dosen der Substanz in eine curareartige Lähmung übergeht, so erscheint aus dem sichergestellten Angriffsort des Guanidins auch ein Rückschluß auf denjenigen des Curarins berechtigt.

Bei den starken organischen Basen, den Ammoniumbasen mit Curare- und Muskarinwirkung und dem Guanidin, ist ihr den anorganischen Alkalien gleichendes physikalisch-chemisches Verhalten Vorbedingung für ihre bestimmte pharmakologische Wirkung. Was sich in der Wirkung dieser organischen Produkte wiederfindet von derjenigen der anorganischen Alkalien, so das frühe periphere Angreifen, das leichte Übergehen in den Harn, die geringe Giftigkeit vom Magen aus, ist auf die identischen physikalisch-chemischen Eigenschaften zurückzuführen. Die spezielle Wirkung der einzelnen Produkte hingegen, ist durch ihre spezielle organische Konstitution und die von dieser abhängige Beständigkeit oder Umwandlungsfähigkeit des Moleküls bedingt.

II.

Aus der medizinischen Poliklinik in Jena (Dir.: Prof. D. Gerhardt).

Ueber den Eiweissabbau bei parenteraler Eiweisszufuhr.

Von

Professor Dr. **Felix Lommel.**

Viele Probleme des Eiweißstoffwechsels sind in ihrer Bearbeitung von den jeweils vorhandenen Methoden so wesentlich abhängig gewesen, daß Fragestellungen und Resultate sich fast ausschließlich nach diesen Methoden richteten. So wurden zunächst mit Hilfe der Bilanzversuche die wesentlichsten Kenntnisse über den Eiweißhaushalt erworben; dann erbrachte die Immunitätsforschung zahlreiche intimere Vorstellungen über jene Reaktionen zwischen Körperzelle und fremdem Eiweiß, die die Vorgänge der Immunisierung und Assimilierung des artfremden Eiweißes begleiten. Für die Verfolgung des normalen Eiweißumsatzes mußte die Klarstellung des in der Darmwand stattfindenden Eiweißab- und aufbaues als wesentliches Erfordernis gelten. — In der folgenden Arbeit ist der Versuch gemacht, diesen in der Darmwand lokalisierten normalen Beginn des Eiweißstoffwechsels zu umgehen, um durch Bilanzversuche bei „parenteraler" Eiweißzufuhr vielleicht indirekte Schlüsse auf die Leistungen der umgangenen ersten Stufe ziehen zu können, und um die vorhandenen wertvollen Arbeiten, die das Verhalten eingespritzter Eiweiße lediglich mittels der sogen. biologischen Methoden verfolgen, durch Bestimmung des Harn-N zu ergänzen.

Eine Nebenfrage betraf dabei noch den zeitlichen Verlauf des Eiweißabbaues, bezw. der N-ausscheidung dann, wenn die (parenterale) Aufnahme, im Gegensatz zur Eiweißresorption vom Darm aus, zeitlich eng begrenzt ist.

Versuche, Eiweißlösungen „parenteral" und zwar meistens subkutan, manchmal auch intravenös einzuführen, sind unter verschiedenen Gesichtspunkten schon früher wiederholt ausgeführt worden. Zunächst mit therapeutischen Absichten.

Ich übergehe hier die primitiven und offenbar unbrauchbaren Versuche früherer Autoren, um auf gründlichere Untersuchungen von Leube(1) und von Zuntz und v. Mering(2) ebenfalls nur kurz hinzuweisen, in denen kleine Mengen Eiweiß, wie die Autoren aus dem Fehlen einer Albuminurie schließen, im Körper zurückgehalten und demnach anscheinend verbrannt wurden. Das Verhalten der Nieren gegenüber dem eingeführten Eiweiß war auch in den meisten anderen Versuchen das ausschlaggebende Kriterium für die Frage, ob das Eiweiß assimilierbar sei oder nicht: ersteres wurde angenommen, wenn der Harn eiweißfrei blieb, letzteres wenn Albuminurie eintrat. Schon Stokvis(3) fand, daß bei Kaninchen und Hunden nach Einspritzung von Eierklar Albuminurie entstand, nicht aber bei Einverleibung von Blutserum. Große Mengen von Blutserum wurden auch von Ponfick (4) und von Ott (5) intravenös eingeführt, ohne daß Albuminurie auftrat. Das Serum schien also assimilierbar. Umfassende Untersuchungen über parenterale Eiweißzufuhr hat später Neumeister (6) angestellt. Er konnte dabei ebenfalls zeigen, daß eine Reihe von Eiweißpräparaten ohne Albuminurie zurückgehalten wird, daß auf Einverleibung anderer dagegen regelmäßig solche sich einstellt. Damit schien der Schluß gerechtfertigt, daß die zurückgehaltenen Stoffe der Assimilation zugänglich seien, daß dagegen die nicht assimilierbaren Eiweißarten der Ausscheidung durch die Nieren verfielen. „Die Nieren, sagt Neumeister, erfüllen ihre Aufgabe, die Zusammensetzung des Blutes zu überwachen, indem sie alles Fremdartige und Überschüssige ausscheiden, so prompt, daß man zur Prüfung, ob ein Eiweißkörper direkt assimilierbar ist, denselben nur ins Blut zu injizieren braucht.“

Die Möglichkeit, daß auch nicht assimilierbares Eiweiß als unschädlicher Körper im Organismus liegen bleiben und daß anderseits auch bei Albuminurie ein großer Teil des Eiweißes abgebaut werden könne, scheint dabei nicht genügend berücksichtigt. Auch wurden die tatsächlichen Angaben Neumeisters von späteren Untersuchern teilweise nicht bestätigt. Von eingespritztem Casein hatte Neumeister anscheinend die ganze Menge im Harn wieder gefunden, während große Mengen von Alkalialbuminat und von Syntonin aus verschiedenen Rohstoffen restlos „assimiliert“ wurden. Munk und Lewandowski (7) fanden dagegen, daß durchgreifende Unterschiede zwischen genuinen und denaturierten Eiweißstoffen bezüglich ihrer Verträglichkeit und Assimilierbarkeit von der Blutbahn aus nicht bestehen. Alle untersuchten Eiweiße wurden in beträchtlichem Maße aus der Blutbahn assimiliert (aus dem Nichterscheinen im Harn erschlossen). Munk und Lewandowski weisen außerdem Neumeisters Vorstellung zurück, als wären dem Organismus gegen den Übertritt gelöster genuiner Eiweißstoffe aus dem Verdauungstraktus in das Blut Schutzmaßregeln erforderlich. Lilienfeld(8) hatte schon vorher verschiedene Eiweißkörper in der gleichen Weise auf ihre Brauchbarkeit für parenterale Ernährung untersucht und bei pflanzlichem Eiweiß (Conglutin) keine Albuminurie, dagegen bei Syntonin eine dasselbe übersteigende Menge von Eiweiß im Harn gefunden. Friedenthal nnd Lewandowski(9) behandelten Kaninchen mit Serum von Hund, Kalb, Pferd und Katze

und fanden danach den Harn eiweißfrei; sie folgern daraus ebenfalls, daß die Eiweißkörper der fremden Sera „im Körper gleich den mit der Nahrung aufgenommenen Eiweißarten verbrannt werden“. Allerdings entging ihnen nicht, daß manchmal nach Einführung relativ geringfügiger Serummengen schwere Vergiftungen und plötzliche Todesfälle eintraten. Sie konnten diese Zwischenfälle vermeiden, indem sie durch Erwärmen der Sera auf 58—60^0 die toxischen Eigenschaften beseitigten. Oppenheimer (10) suchte über die Größe des nach Eierklarinjektion (beim Kaninchen) im Harn wiedererscheinenden Bruchteils des Eiweißes zuerst genauere quantitative Vorstellungen zu gewinnen. Es war dabei die Vorstellung maßgebend, eine wachsende Immunität gegen das fremde Eiweiß zu erzielen und an einer gleichzeitigen Abnahme des im Harn erscheinenden Bruchteiles einen Zusammenhang der Immunitätsreaktion (angezeigt durch Präzipitinbildung) mit der Assimilation kenntlich zu machen. Ein solcher Zusammenhang konnte ja vermutet werden auf Grund der von Michaelis und Oppenheimer (11) aufgestellten Annahme, „daß die ergophoren Gruppen der Präzipitine“, die die Ehrlichsche Seitenkettentheorie voraussetzt, „eine wichtige Rolle bei der Assimilation parenteral eingeführten körperfremden Eiweißes besitzen könnten“, daß „die Präzipitine tatsächlich als Immunkörper fungieren, die den eingeführten Fremdkörper seiner Fremdartigkeit berauben, ihn unschädlich machen“ und daß „diese Denaturierung, die der Aufnahme vorhergehen muß, und die sonst durch die Verdauungsenzyme bewirkt wird, vielleicht der Endzweck dieser Immunitätsreaktion ist.“ Die Anschauung, daß die Assimilation des auf normalem Wege aufgenommenen Eiweißes durch Anlagerung an gewisse Seitenketten des Protoplasmas erfolge, hat ja Ehrlich (12) schon viel früher geäußert. Hamburger (13) trat an dieselbe Fragestellung mit allerdings nur qualitativen Methoden heran und fand, daß durch wiederholte Injektionen (von Eierklar bei Kaninchen) die Eiweißausscheidung im Harn vermindert und zum Verschwinden gebracht werden konnte. Oppenheimer erhielt schwankende Ergebnisse. Ein Zusammenhang etwa auftretender Verminderung der Eiweißausscheidnng im Harn mit vermehrter Präzipitinbildung war nicht zu erkennen; wo durch lange Vorbehandlung eine erhöhte Resistenz gegen Eiereiweiß entstand (gemessen an der Menge des Harneiweißes), da handelte es sich um eine allgemeine auch gegen Serum wirksame, nicht spezifische Resistenzerhöhung. Eingespritztes Serum wurde, auch bevor Präzipitine nachweisbar waren, von Anfang an fast restlos zurückbehalten, „also wohl verbraucht“. v. Dungern (14) injizierte Kaninchen Blut von Maja squinado, einer Krustazee, und vermochte es vermittels eines vom vorbehandelten Kaninchen gelieferten Majapräzipitins quantitativ im Blut des Versuchstieres zu verfolgen. Das Majaplasma ging nicht in den Kaninchenharn über, anderseits verschwand es in kurzer Zeit aus dem Blute des Kaninchens. Das spezifische Präzipitin trat dagegen erst mehrere Tage später im Blute auf. v. Dungern nimmt daher an, daß das Majaplasma an irgendwelche Zellen gebunden wird und daß diese Verbindung mit irgendwelchen Gruppen des Protoplasmas der Verbrennung des Eiweißkörpers vorangehen muß.

Sicherlich ist die Verfolgung artfremder Eiweiße im Blute mittels der biologischen Methode ein äußerst wertvolles Hilfsmittel zur Erforschung des Schicksals dieser Körper im Stoffwechsel.

Namentlich F. Hamburger und seine Mitarbeiter vermochten mit dieser Methode wertvolle Bereicherungen unserer Kenntnisse herbeizuführen und auch für gewisse praktische, besonders für die Kinderheilkunde wichtige Fragen neue Gesichtspunkte zu gewinnen. Angeregt durch die nach Einspritzung von Diphterieheilserum (Pferdeserum) häufig beobachtete Erscheinung des Serumexanthems untersuchten Hamburger und Moro (15) den Verbleib von Pferdeserum, das als Scharlachserum nach Moser, d. h. Antistreptokokkenserum in Mengen von 200 ccm bei Kindern eingespritzt worden war. Sie fanden, daß auch der Mensch auf Pferdeserum mit Präzipitinbildung reagiert, daß beim Menschen wie beim Kaninchen die präzipitable Substanz noch mehrere Tage nach der Injektion im Blut nachweisbar ist, um nach dem Auftreten der Präzipitine endgültig zu verschwinden. In einer weiteren Versuchsreihe, die Hamburger mit v. Reuß (16) an Kaninchen ausführte, ergab sich für artfremdes Serum ein ähnliches Resultat, nach Eierklar- und Milcheinspritzung dagegen verschwand das artfremde Eiweiß gewöhnlich schon innerhalb der ersten 24 Stunden und zwar ohne Präzipitinbildung; bei wiederholten Injektionen wurde nach einiger Zeit immer Präzipitin gebildet. Dabei erschien die Wirksamkeit der Leukozyten für die Assimilation des artfremden Eiweißes bedeutungsvoll; dies ist daraus zu schließen, daß nach Hamburger und v. Reuß nach jeder Milch- und Eierklarinjektion eine starke von Hyperleukozytose gefolgte Abnahme der Leukozyten eintrat. Die Leukozytenschwankungen nach Seruminjektionen waren weit geringer.

Im Anschluß an eine unten zu besprechende Arbeit von Friedemann und Isaac (17) aus der eine höhere Assimilationsfähigkeit des Fleischfressers im Vergleich mit dem Pflanzenfresser hervorzugehen schien, untersuchten Hamburger und Sluka (18) das Schicksal parenteral eingebrachten artfremden Serums in vergleichender Weise bei verschiedenen Tierarten. Hunde und Ziegen, auch Katzen verarbeiteten das Pferdeserum in gleicher Weise. Das Serum enthielt Tetanusantitoxin, Antitoxinbestimmungen im Blute des Versuchstieres gaben über das Vorhandensein und das Verschwinden des eingespritzten Serums Auskunft. Dabei ergab sich, daß präzipitable Substanz und Antitoxin gegen 5 bis 7 Tage lang im Blute nachzuweisen waren, dann trat ein plötzlicher, offenbar durch einen spezifischen Vorgang verursachter Absturz der Kurven ein. Nach Hamburger und Sluka ist im allgemeinen die Verdauungsfähigkeit der Körperzellen des Hundes artfremdem Serum gegenüber nicht größer als beim Kaninchen.

Wenn nun für die Beurteilung der Vorgänge, denen artfremdes in die Blutbahn eingedrungenes Eiweiß unterliegt, der biologische Nachweis bezw. die Antitoxinbestimmung in der von Hamburger und seinen Mitarbeitern ausgeführten Weise auch zweifellos sehr

verdienstvoll ist, so handelt es sich dabei doch um eine Methode, die nicht minder als andere nur auf einer ganz kurzen Strecke den Weg des fremden Stoffes zu verfolgen gestattet, nämlich nur während der der Assimilation vorhergehenden Vorbereitung. Durch v. Dungerns Arbeiten wissen wir, daß das artfremde Eiweiß auch Bindungen im Körper eingehen kann, die sein Verschwinden aus der Blutbahn zur Folge haben, ohne daß schon Antikörper ins Blut eingetreten wären. Außerdem kann man wohl nur zustimmen, wenn Hamburger und Sluka selbst betonen, daß die Methode des Nachweises der präzipitablen Substanz und des Antitoxins „an sich eine verhältnismäßig rohe sei und sich, was quantitative Exaktheit anlangt, nicht im entferntesten mit chemischen Methoden messen könne."

Ähnliche Erwägungen bildeten den Ausgangspunkt der nachstehenden Versuchsreihe, in der der Abbau des körperfremden Eiweißes nicht mit den biologischen Reaktionen, sondern — sozusagen am andern Ende des von dem Eiweiß im Stoffwechsel durchlaufenen Weges — durch Bestimmung der N-ausfuhr im Harn verfolgt wurde; zunächst unabhängig von der ähnlich gerichteten Arbeit von Friedemann und Isaac (l. c.). Es wird sich aus dem Teil der Arbeit, der derselben Fragestellung sich zuwendet, ergeben, daß meine Resultate teilweise gut übereinstimmen mit denen der genannten Autoren.

Friedemann und Isaac fanden, daß nach Injektion von artfremdem Eiweiß bei Hunden eine Vermehrung des Harn-N zu Tage trat, aus der der Abbau dieses Eiweißes erschlossen werden konnte; eine bedeutend höhere, die Zufuhr überschreitende, also auf Mehrzersetzung von Eiweiß hindeutende Ausfuhr von N im Harn erfolgte, wenn die Hunde einer Vorbehandlung mit der zur Injektion benützten Eiweißart unterzogen worden waren. Im Gegensatz hiezu wurde beim Pflanzenfresser (Ziege) eine Steigerung des Harn-N nach Eiweißinjektion nicht beobachtet, also wohl das einverleibte Eiweiß nicht zersetzt. Nach Immunisierung erwarb auch die Ziege die Fähigkeit, das körperfremde Eiweiß zu zerlegen, allerdings nicht ohne schwere, sogar tödliche Störungen. Gegenüber den oben erwähnten, anderslautenden Ergebnissen von Hamburger und Sluka weisen Friedemann und Isaac auf die wesentliche Inkongruenz der Methoden hin. Sie betonen dabei, daß eine Identität der präzipitablen Substanzen mit dem eingespritzten Eiweiß keineswegs erwiesen sei, und daß die beiden Methoden „nur unter gewissem Vorbehalt mit einander in Verbindung gebracht werden können. Im Harn bestimmen wir den ausgeschiedenen Stickstoff,

während umgekehrt durch die Präzipitinreaktion der Rest der zurückbleibenden präzipitablen Substanz bestimmt wird."

Will man nun Eiweißlösungen in das Gefäßsystem einführen mit dem Erfordernis, krankhafte Verhältnisse möglichst zu vermeiden, so wird man einerseits hinsichtlich der einzuführenden Flüssigkeitsmengen, anderseits hinsichtlich der Konzentration der Lösungen nicht über gewisse Grenzen hinausgehen können. Es zeigte sich bei den meist kleinen Hunden, die zu diesen Versuchen verwendet wurden, daß im allgemeinen nicht mehr als ca. 10 g Eiweiß auf diesem Wege zugeführt werden konnten. Um die Superposition der daraus sich ergebenden N-Ausscheidung im Harn auf die normale N-Kurve möglichst deutlich zu machen, war es demnach notwendig, von vornherein nicht nur einen möglichst gleichmäßigen Verlauf der letzteren zu erstreben, sondern auch die Menge der normalen N-Ausfuhr möglichst niedrig zu halten. Es wurden die Tiere daher teils nur mit einer geringen Menge Fleisch bei beträchtlicher Zufuhr von Fett und Kohlehydraten ernährt, teils, und zwar in der Mehrzahl der Fälle, im Hunger bei sehr niedriger und gleichmäßiger N-Ausfuhr untersucht. Die Tiere wurden in engen Drahtkäfigen über einem Blechgefäß, das den Harn aufnehmen konnte, gehalten. An den Tagen vor und nach der intravenösen Eiweißeinverleibung wurde der Harn, um jeden Verlust zu vermeiden, nur mit dem Katheter entleert (nur weibliche Tiere, hintere Vaginalwand aufgeschnitten). Nach dem Katheterisieren wurde die Blase jedesmal nachgespült, die Abgrenzung war also eine absolut scharfe. Bei hungernden Hunden konnte bei 24stündigem Katheterisieren fast immer, bei 12stündigem immer die spontane Harnentleerung vermieden werden. Die Infusion von Eiweißlösungen wurde fast immer an der Vena pediaea des Hinterbeines vorgenommen, indem in diese eine Glaskanüle eingebunden wurde, die durch einen Schlauch mit einem Trichter verbunden war, aus dem die Flüssigkeit unter geringem Druck einlief. Wiederholt wurde auch die Vena jugularis zur Infusion benützt. Narkose wurde nie angewendet, um deren nicht kontrollierbare Wirkung auf den Stoffwechsel zu vermeiden. Die Tiere ertrugen den kleinen Hautschnitt und die längere ruhige Lage bei schonendem Aufbinden ohne Gegenwehr. Wesentlich war langsame Ausführung der Infusion; das Einfließen von 150--200 ccm Flüssigkeit dauerte meistens 60 bis 90 Minuten.

Um ein den Körperflüssigkeiten chemisch möglichst ähnliches Eiweiß zu benützen, wählte ich zunächst Blutserum vom Schwein, das möglichst frisch verarbeitet wurde. Es gelang, in einer Reihe von Versuchen größere Mengen von Schweineserum ohne stärkere Störung des Befindens beizubringen; im allgemeinen wurde versucht, 25—30 ccm des Serums auf 1 kg Hund einzuverleiben. Die Tiere waren während und kurz nach der Infusion etwas matt und zeigten beschleunigte Atmung, auch erfolgte — nicht immer — Erbrechen und etwas diarrhoische Stuhlentleerung; bei schwereren

Störungen, die namentlich bei zu rascher oder zu reichlicher Infusion vorkamen, wurde der Versuch verworfen. Um die toxischen Wirkungen des körperfremden Serums abzuschwächen, erwärmte ich in einigen Versuchen das Serum 2—3 Stunden lang im Wasserbad bis zu 68°. Dabei trat eine leichte Opaleszenz auf, jedoch keine Gerinnung. Die von Friedenthal und Lewandowski (l. c.) gefundene leichtere Ertragbarkeit des erwärmten Serums erschien in meinen Versuchen jedoch nicht sehr deutlich und ich unterließ in der Mehrzahl der Versuche diese Manipulation.

Versuch XXI.

Einer Hündin von ca. 6000 g Gewicht, die seit 14 Tagen völlig hungert, werden im Verlauf von 70 Minuten 147 ccm frisches Schweineserum durch die vena pediaea beigebracht. Während des Einfließens atmet das Tier tief, es erfolgt gegen Ende und kurz nach der Infusion wäßriges Erbrechen, in dem Erbrochenen findet sich Gallenfarbstoff, Eiweiß nur in Spuren. Das Tier ist einige Stunden lang matt, doch nicht kollabiert. Die Temperatur war gesteigert: nach 4 Stunden auf 39,1, nach 8 Stunden auf 39,2, nach 12 Stunden betrug sie 38,3. Den Verlauf der N-Ausscheidung zeigt die Tabelle.

Tag	Harn-N.		Tag	Harn-N.	
1.	1,42	11. Hungertag	4.	1,87	Injektion
2.	1,18	3,79	5.	1,62	4,90
3.	1,19		6.	1,51	

Der nach Kjeldahl bestimmte N-Gehalt des Serums betrug 0,911 Proz., von den eingeführten 1,34 g sind, wenn man die N-Summe der 3 der Injektion folgenden Tage mit der der 3 vorausgegangenen vergleicht, 90 Prozent wiedererschienen, also ist das eingespritzte Eiweiß fast ganz zersetzt worden.

Versuch XXX.

Einer seit 8 Tagen hungernden Hündin von 4000 g Gewicht werden intravenös 145 ccm frisches Schweineserum einverleibt. Es trat kein Fieber ein, jedoch bestand einige Zeit nach der Injektion etwas Mattigkeit, auch erfolgte wiederholt Erbrechen. Das Erbrochene wurde gesammelt, es enthielt 0,05 N. Im Serum waren enthalten 1,70 N, es waren also 1,65 g N zugeführt worden.

Tag	Harn-N.		Tag	Harn-N.	
1.	1,72		8.	1,47	Injektion
2.	1,51		9.	2,00	
3.	1,37		10.	1,72	7,90
4.	1,15		11.	1,40	
5.	1,26	6,28	12.	1,31	
6.	1,20				
7.	1,30				

Es wurden also von 1,65 g N im Schweineserum 1,62 g = 98 Proz. als nicht koagulabler N im Harn ausgeschieden.

Versuch XXVI

betraf eine Spitzhündin von 7400 g Gewicht, die am 7. Hungertag 150 ccm frisches Schweineserum intravenös erhielt = 1,68 N. Krankhafte Störungen waren nicht zu erkennen.

Tag	Harn-N.		Tag	Harn-N.	
1.	2,30	3. Hungertag	4.	3,41	Injektion
2.	2,34	} 6,89	5.	2,63	} 8,54
3.	2,25		6.	2,50	
			7.	2,21	

Von 1,68 g intravenös beigebrachtem N wurden demnach in 3 Tagen 1,66 = 98 Proz. wieder ausgeschieden.

Versuch XXXI

wurde an einer ca. 8000 g schweren Wolfspitzhündin ausgeführt, indem nach 7 Hungertagen 200 ccm frisches Schweineserum = 2,68 N intravenös beigebracht wurden. Das Tier war nach einmaligem Erbrechen (mit 0,04 N) völlig munter.

Tag	Harn-N.		Tag	Harn-N.	
1.	1,40		5.	2,81	Injektion
2.	1,56	} 6,36	6.	2,60	} 8,72
3.	1,64		7.	1,33	
4.	1,76		8.	1,98	
			9.	1,60	

Es ist also von dem N des injicierten Serums (2,64 g nach Abzug des im Erbrochenen gefundenen N) im Verlauf der folgenden 4 Tage der größte Teil, 2,36 g = 89 Proz. im Harn wieder erschienen. Albuminurie bestand nicht.

Bei Versuch XXIX

war eine 12 tägige Hungerperiode nur dadurch unterbrochen worden, daß am 10. Tag eine kleine, 1,63 g N enthaltende Eiweißmenge per os zugeführt worden war. Hiervon waren ca. 75 Proz. rasch zersetzt worden, die N-Ausfuhr hatte sich annähernd auf die vorherige Höhe eingestellt, als am 13. Hungertag 114 ccm Schweineserum eingespritzt wurden. Das Serum war vorher 2 Stunden lang auf 65° erhitzt worden und enthielt 1,30 g N.

Tag	Harn-N.		Tag	Harn-N.	
1.	2,80	3. Hungertag	8.	3,25	1,63 N. per os
2.	2,76		9.	2,04	
3.	2,45		10.	2,82	Injektion
4.	1,96		11.	2,58	
5.	1,91		12.	1,97	
6.	2,00		13.	2,30	
7.	2,06				

Wenn man die am 9. Tag gefundene N-Ausscheidung von 2,04 g als die dem Hungerzustand entsprechende annimmt, so wären etwas mehr als 100 Proz. des zugeführten N ausgeschieden worden.

Versuch XXIV fällt etwas aus der Reihe, obwohl störende Einflüsse nicht erkennbar waren. Eine Pintscherhündin erhielt am 9. Hungertag 190 ccm frisches Schweineserum in die Vene eingeführt = 2,14 g N.

Tag	Harn-N.		Tag	Harn-N.	
1.	3,48	9,49	4.	3,04	Injektion 10,55
2.	2,91		5.	3,34	
3.	3,10		6.	4,17	

Es ist hier eine stärkere Steigerung der N-Ausfuhr erst am 3. Tag nach der Injektion deutlich. Infolge vorzeitiger Beendigung des Versuches ist die weitere Verfolgung der N-Kurve unmöglich. Die Mehraussscheidung betrug während der ersten 3 Tage 50 Proz. des eingespritzten Serum-N.

Beim Versuch XXII war die Anordnung dieselbe, nur wurde das Schweineserum subkutan eingeführt. Es war ca. 2 Stunden lang auf ca. 65° erhitzt worden und enthielt in 175 ccm 1,96 g N.

Tag	Harn-N.		Tag	Harn-N.	
1.	1,65	6. Hungertag 4,77	4.	2,05	Injektion 5,86
2.	1,58		5.	2,43	
3.	1,54		6.	1,38	
			7.	1,26	
			8.	1,31	

Es wurden also nur ca. 55 Proz. des im Schweineserum enthaltenen N im Harn wiedergefunden; möglicherweise war die Resorption des Eiweißes aus dem subkutanen Depot unvollständig.

Die mitgeteilten Versuche lassen erkennen, daß die Eiweiße des intravenös eingeführten körperfremden Serums zum größten Teil binnen kurzer Zeit in den Stoffwechsel eintreten und anscheinend zu den normalen Stoffwechselendprodukten abgebaut werden. Die in den 5 ersten Protokollen ersichtlichen Mehrausscheidungen von Harn-N betragen 88 — über 100 Prozent der im Serum enthaltenen N-mengen. Wie weit der Mechanismus des Abbaues mit den Verhältnissen des normalen Eiweißstoffwechsels in Vergleich gesetzt werden kann, wird noch zu erörtern sein.

Die zeitlichen Verhältnisse der N-ausscheidung können deshalb Interesse beanspruchen, weil die Aufnahme des Eiweißes im Gegensatz zur Resorption durch den Darm auf eine sehr kurze Zeit zu-

sammengedrängt ist. Bei Eiweißfütterung verläuft die Aufnahme sehr langsam, so daß sich die Resorptionsgeschwindigkeit in der N-kurve des Harns geltend machen kann. Einleuchtende Beispiele dafür hat neuerdings Vogt (23) geliefert.

Gruber(19) weist darauf hin, daß die nach Eiweißfütterung eines Hungertieres explosionsartig in die Höhe schnellende N-Ausfuhr nicht nach 24 Stunden zur Norm zurückkehrt, sondern daß ein Rest des N erst im Laufe der 2 folgenden Tage zur Ausscheidung gelange, so daß die N-Kurve einen langen Schwanz nach sich zieht. Er entnimmt daraus, daß das zu zerlegende Material nicht gleichartig ist, daß vielmehr die einzelnen bei der Fleischverdauung im Darm entstehenden Eiweißkörper und eiweißähnlichen Substanzen sich verschieden resistent gegen die Zersetzung verhalten. Falta(20) zeigte, daß auch bei Fütterung einzelner Eiweißkörper ähnliche langgezogene Ausscheidungskurven zustande kommen. Er glaubt, den erst nach längerer Zeit zur Zerlegung kommenden Teil des Eiweißes in jenem Anteil suchen zu sollen, der in Form hochmolekularer Verbindungen zur Resorption gelangt. Die Größe dieses Anteils, die er bei verschiedenen Eiweißarten verschieden fand, soll durch die verschiedene Resistenz dieser Körper gegen die Verdauungsfermente, also durch Vorgänge im Darmrohr bedingt sein.

Um nun den zeitlichen Verlauf der N-ausscheidung im Harn bei meinen Versuchen ohne Verwendung umfangreicherer Kurven übersichtlich vor Augen zu führen, wurde die folgende Tabelle angelegt, zu deren Verständnis einige Worte nötig sind.

In der 2. Reihe findet sich die Dauer der in jedem Versuch eingehaltenen Beobachtungsintervalle, d. h. der Zeiten zwischen den einzelnen Urinentleerungen angegeben. Die N-Ausfuhr während dieser Intervalle wurde nur am Tag der Infusion wirklich festgestellt und unter I, II usw. eingetragen, für die Vorperiode wurde die auf die Zeit des jeweiligen Intervalls (verschieden bei den einzelnen Versuchen) treffende N-Menge nur rechnerisch aus der Tagesdurchschnittsmenge ermittelt und in der 3. Zeile („Vorperiode“) als Normalwert und Maßstab für die N-Zersetzung eingetragen. Die dabei zugrunde liegende Voraussetzung, daß die N-Ausscheidung im Hunger eine ganz gleichmäßige sei, trifft immerhin soweit zu, daß stärkere Fehler wohl nicht untergelaufen sind. Die Ziffern I und II in der Rubrik „2. Tag“ bedeuten die erste und zweite Hälfte dieses Tages.

Die Tabelle läßt auf diese Weise deutlich die Superposition der N-vermehrung auf die Horizontale des durch die Vorperiode ermittelten Hungerstickstoffwechsels erkennen. Der N-zuwachs ist am größten zwischen der 6. und der 12. Stunde, hält aber darüber hinaus noch lange an; in den meisten Versuchen ist eine Erhöhung am 2. Tag noch sehr deutlich und teilweise ist sie auch am 3. Tag noch erkennbar. Nur im Versuch XXIV verhält es sich anders, die Kurve zeigt nach kurzem Anstieg eine vorübergehende Senkung und

Versuch		XXI	XXX	XXXI	XXIV	XXVI	XXIX
Intervalle (Stunden)		4	3	6	8	4	6
Vorperiode		0,21	0,16	0,39	1,05	0,38	0,51
Versuchstag	I.	0,36	0,16	0,20	1,93	0,52	0,62
	II.	0,72	0,17	1,16	0,50	0,78	0,78
	III.	0,38	0,21	0,75	0,47	0,66	} 0,71 (III.–IV.)
	IV.		0,20	0,70			
	V.	} 0,14 (IV.–VI.)				} 0,46 (IV.–VI.)	
	VI.						
	VII.		} 0,18 (V.–VIII.)				
	VIII.						
2. Tag	I	} 0,27 (I–II.)	0,26	0,63	} 1,11 (I–II.)	0,44	0,66
	II.		0,23	0,66		0,43	0,61
3. Tag		0,25	0,21	0,33	1,38	0,41	0,49

erst am 3. Tag kommt eine Erhebung zu stande, die leider wegen vorzeitiger Beendigung des Versuches nicht weiter verfolgt werden konnte. Beim Abschluß des Versuchs waren nur ca. 50 Proz. des injizierten N. wieder erschienen. Worauf das abweichende Ergebnis dieses Versuches beruhte, war nicht zu ermitteln.

Soviel scheint aus der Gestaltung der N-Ausscheidungskurven hervorzugehen, daß die Verdauungs- und Resorptionsverhältnisse im Darmkanal nicht ausschließlich bestimmend zu sein brauchen für den zeitlichen Ablauf der nach Eiweißfütterung einsetzenden Vermehrung der N-ausscheidung. Dies spricht für die Vermutung, daß auch der zeitliche Ablauf der Verarbeitung des bereits resorbierten Nahrungseiweißes durch die Körperzellen Anteil hat an der Gestaltung dieser Kurve, im Sinne der schon erwähnten Vorstellung Grubers von der verschiedenen Resistenz der verschiedenen im Nahrungseiweiß vorhandenen Eiweißkörper. Allerdings darf nicht verkannt werden, daß die bei den hier mitgeteilten Versuchen herrschenden Verhältnisse von denen bei normaler Eiweißverdauung zu verschieden sind, um zu eingehenderer Vergleichung zu berechtigen. In dem einen Fall handelt es sich um allmähliche Aufnahme großer, im Darm zur Arteigenheit umgeprägter oder in leicht assimilierbare Bruchstücke zerspaltener Eiweißmengen, im anderen um die Verarbeitung an sich geringfügiger Quantitäten von Eiweiß, das aber durch seine körperfremde Beschaffenheit besondere Schwierigkeiten für die Assimilation bewirken dürfte.

Um diese Schwierigkeit zu umgehen, brachte ich nun hungernden bezw. gleichmäßig gefütterten Hunden größere Mengen arteigenen

Eiweißes in Gestalt von Hundeserum intravenös bei. Die Tiere zeigen bei diesem Eingriff nicht die geringsten Störungen ihres Wohlbefindens, wenn nur die Einverleibung nicht zu schnell erfolgt. Wiederholt wurde auch das ganze Blut durch direkte Transfusion aus der Arterie zur Vene übergeleitet.

Versuch X.

Eine Schäferhündin von 7500 g wird täglich mit 80 g Fleisch, 20 g Schweinefett und 50 g Reis gefüttert. Die Nahrung enthielt ungefähr 2.8 g N, und blieb während des ganzen Versuches, da das Fleisch demselben Vorrat (gehackt und auf Eis aufbewahrt) entnommen wurde, völlig gleichwertig. Am 7. Versuchstag wurden im Verlauf von 65′ 305 ccm frisches Hundeserum durch die vena pediaea eingeführt. Das Serum enthielt (Kjeldahl) 3,13 N, dem, bei Vernachlässigung des jedenfalls geringen Reststickstoffes 18,8 g Eiweiß entsprechen würden.

Tag	Harn-N.		Tag	Harn-N.	
1.	2,47	2. Tag nach Beginn der Fütterung	6.	2,31	Injektion
2.	2,21		7.	2,01	
3.	2,57		8.	2,07	
4.	2,45		9.	2,07	
5.	2,28		10.	2,22	

Es ist also die N-Ausfuhr nach der intravenösen Einverleibung der bedeutenden Eiweißmenge nicht gestiegen, sondern im Gegenteil gesunken.

Versuch XVII.

Hündin von ca. 7000 g hungert seit 6 Tagen. Am 7. Tag werden 190 ccm frisches Hundeserum, enthaltend 2,12 N = 13,3 Eiweiß intravenös einverleibt.

Tag	Harn-N.		Tag	Harn-N.	
1.	2,21	3. Hungertag	5.	1,92	Injektion
2.	2,14	8,25	6.	1,51	7,45
3.	2,11		7.	2,00	
4.	1,79		8.	2,02	

Fs ist wiederum keine Zunahme, sondern eine geringe Abnahme der N-Ausscheidung zu verzeichnen.

Versuch XXV.

Eine junge Foxterrierhündin von ca. 4000 g Gewicht hungert seit 7 Tagen. Am 8. Tag erhielt das Tier 150 ccm frisches Hundeserum = 1,8 N = 11,2 Eiweiß per venam.

Tag	Harn-N.		Tag	Harn-N.	
			4.	1,20	Injektion
1.	1,70	5. Hungertag	5.	1,44	
2.	1,76		6.	1,46	
3.	1,29		7.	1,28	

Im Versuch VIII wurde einer ca. 7000 g schweren Hündin, (mit 100 g Fleisch und 36 g Fett ernährt wurde, durch direkte Tra fusion 390 g Hundeblut zugeführt, was keinerlei Gesundheitsstöru bewirkte. Das zugeflossene Blut enthielt im ganzen etwa 9,4 g N, w von aber nur ca. 2,56 g auf Plasmaeiweiß zu rechnen sind. I Tabelle läßt erkennen, daß nur eine ganz geringfügige Erhöhung d N-Ausscheidung auf die Transfusion folgte.

Tag	Harn-N.		Tag	Harn-N.	
			4.	3,41	Transfusion
			5.	3,27	9,98
			6.	3,30	
1.	3,02		7.	3,03	
2.	2,80	8,94	8.	2,80	
3.	3,12		9.	3,06	

Es ergibt sich aus den mitgeteilten Versuchen, daß der N d eingespritzten arteigenen Eiweißes im Harn nicht wieder erschie daß also das Serumeiweiß des Hundes, in großen Meng anderen hungernden Hunden intravenös beigebrach nicht zersetzt wird.

Dieses Resultat widerspricht ebenso der Erwartung, wie d seit langer Zeit über diesen Gegenstand vorliegenden Untersuchung und Ansichten.

Versuche Forsters (21) aus dem Voit'schen Laboratorium, die der Diskussion der Begriffe: zirkulierendes und Organeiweiß eine wese liche Rolle gespielt haben, hatten das Ergebnis gebracht, daß die Ei spritzung von ganzem Blut (defibriniert) keine Änderung des Eiwei stoffwechsels hervorbringe, daß Einspritzung von Blutserum dagegen ei im Harnstickstoff zum Ausdruck gelangende Steigerung des Eiwei stoffwechsels zur Folge habe, die dem Eiweißgehalt des Serums u gefähr entspreche. Diese Versuche dienten Voit als Stütze für sei Unterscheidung zwischen zirkulierendem und Organeiweiß. Pflüger (2 dagegen entnimmt aus einer kritischen Umrechnung der Versuc Forsters, daß in beiden Fällen, sowohl bei Einführung von ganze Blut als bei Serumeinspritzung, das Plasma- bezw. Serumeiweiß i Harnstickstoff wiedererscheine. Stelle man die entsprechende gerin N-Menge mit der des gesamten Blutes in Vergleich, so bleibe die Meh

ausscheidung natürlich hinter der Menge des eingespritzten N sehr weit zurück; so sei die falsche und unverständliche Schlußfolgerung entstanden, daß das ganze Blut im Gegensatz zum Serum den N-Umsatz nicht erhöhe. — Daß die (artgleichen) Erythrozyten zum größten Teil erhalten bleiben, ist ja eine hinreichend gesicherte Tatsache.

Ich glaube nicht, daß die von Pflüger versuchte Umdeutung der Forsterschen Resultate das richtige trifft. Es ist wohl unvermeidlich, daß bei Überführung so großer Eiweißmengen, wie sie im Gesamtblut enthalten sind, Abfälle entstehen, die zum Teil wohl von dem kleinen Bruchteil zerfallender roter Blutkörperchen herrühren und als N im Harn erscheinen müssen. Aus diesen kleinen N-vermehrungen eine ausschließliche Zersetzung von Plasmaeiweiß zu folgern, ist auch dann nicht ohne weiteres angängig, wenn die Mengen einigermaßen dem Plasma-N entsprechen. In meinen Versuchen war die nach direkter Transfusion aufgetretene N-steigerung jedenfalls weit geringer, als es dem Plasmaeiweiß entsprochen hätte, entsprechend der für die Blutkörperchen im Vergleich zur Defibrinierung schonenderen Methode. Die Serumeinspritzungen Forsters sind übrigens mit Pferdeserum ausgeführt und ergeben, genau wie die erwähnten Versuche mit Schweineserum, daß der N des Serums im Harn wieder erscheint. Heute, wo wir die verschiedenen biologischen Qualitäten des arteigenen und artfremden Eiweißes kennen, werden wir diese Versuche nicht mehr als beweiskräftig ansehen können, wo es sich um die Begriffsbestimmung von Organeiweiß und zirkulierendem Eiweiß handelt. In einem einzigen Versuch mit arteigenem (Hunde-) Serum fand Forster allerdings ebenfalls eine wenigstens teilweise Eiweißzersetzung, doch ist der Versuch ohne genügende Unterlagen mitgeteilt, ich muß ihn daher außer Betracht lassen.

Es bleibt also das Ergebnis zu Recht bestehen, daß der Hund das ihm intravenös beigebrachte arteigene Eiweiß — zunächst wenigstens — nicht angreift, daß er auch im Zustand höchster Eiweißnot, im schweren Hunger, damit nichts anzufangen vermag.

Der Schutz, mit dem das arteigene Serumeiweiß im Getriebe des Stoffwechsels ausgestattet ist, ist kein absoluter; er läßt sich teilweise aufheben, indem man das Serum erwärmt. Dies ist aus nachstehenden Versuchen ersichtlich.

Versuch XXXII. Einer seit 6 Tagen hungernden Spitzhündin wurden 80 ccm eines zwei Stunden lang auf 68° erhitzten Hundeserums intravenös eingeführt. Das Serum hatte dabei eine schwache Opaleszenz angenommen, Gerinnung war auch bei mikroskopischer Betrachtung nicht erkennbar. In dem Serum waren 0,86 g N enthalten.

Tag	Harn-N.		Tag	Harn-N.	
1.	1,32	4. Hungertag		1,78	Injektion
2.	1,33	4.06		1,57	4,87
3.	1,41			1,58	

Es ist also das durch Wärme veränderte Eiweiß fast vollständig der Zersetzung verfallen; der Versuch leidet allerdings daran, daß die eingespritzte Eiweißmenge sehr klein war und das Ergebnis daher durch kleine zufällige Schwankungen des Eiweißstoffwechsels leicht gefälscht werden konnte.

Diesen Fehler vermeidet folgender gleichsinnige Versuch XXXIV. Eine Hündin von ca. 8000 g Gewicht wird seit 5 Tagen mit einer gleichbleibenden Nahrung von 50 g Reis, 20 g Aleuronat und 20 g Schweinefett gefüttert. Am 6. Tag werden 215 ccm Hundeserum eingeführt, das ca. 2 Stunden auf 65—68° erwärmt worden war und 2,61 g N enthielt.

Tag	Harn-N.		Tag	Harn-N.	
1.	3,14		4.	5,06	Injektion
2.	3,60	7,00	5.	3,74	8,80
3.	3,40		6.	3,51	

Um bei diesem Versuch den möglicherweise noch nicht zur konstanten Periode gehörigen Wert des 1. Tages nicht in Rechnung zu stellen, sind nur die zwei der Einspritzung vorausgehenden Tage in Vergleich gesetzt zu den zwei folgenden Tagen. Es ergibt sich die bemerkenswerte Tatsache, daß ein sehr großer Teil des durch Wärme denaturierten Serumeiweißes, 77 Proz., abgebaut wurde, in Übereinstimmung mit dem vorher mitgeteilten Versuch XXXII. Eine Kontrolle dieses Ergebnisses durch weitere Versuche war mir wegen Mangels an Hunden bezw. an hinreichenden Mengen frischen Hundeserums bisher nicht möglich. Die gleichsinnigen Ausschläge der beiden Versuche erlauben aber doch wohl einen hinreichend sicheren Schluß und ergeben die Annahme, daß die Schutzvorrichtungen, durch die sich das im Überschuß zugeführte, frische genuine Hundeserum gegen den Abbau schützt, durch Wärme zerstört oder teilweise außer Kraft gesetzt werden.

Im Anschluß an die oben versuchte Aufstellung einer Zeitkurve für die Zersetzung des parenteral beigebrachten fremden Eiweißes habe ich auch den zeitlichen Verhältnissen der N-Ausscheidung nach Ein-

bringung des erwärmten Hundeserums beobachtet. Als Ausgangspunkt muß dabei die infolge der Nahrungsaufnahme nicht horizontale, sondern diskontinuierliche N-Kurve genommen werden, die am besten durch wiederholtes Katheterisieren an Normaltagen der Vorperiode zu ermitteln gewesen wäre, die aber, nachdem dies versäumt worden, auch rechnerisch mit einiger Sicherheit aus dem bekannten Ablauf der N-Ausscheidung nach Eiweißaufnahme zu entnehmen ist. Ich folge den Angaben von Vogt (23), wenn ich die N-Ausscheidung des Normaltages nach der aus Fleisch und Fett bestehenden Mahlzeit mit folgenden auf je 4 Stunden berechneten und in der linken Zahlenreihe ersichtlichen Anteilen zugrunde lege. Der Normaltag ist der der Einspritzung vorhergehende Tag, rechts sind die Werte am Tag der Einspritzung und am folgenden Tag angeführt.

1. bis 4. Stunde	0,56	0,80	0,38
5. „ 8. „	0,87	1,37	1,75
9. „ 12. „	0,77	1,16	1,75
13. „ 24. „	1,21	1,72	1,61

Es ist also, sofern es erlaubt ist, aus den kleinen Zahlen einen Schluß zu ziehen, der zeitliche Ablauf des „parenteralen“ Abbaues des Hundeeiweißes dem bei Aufnahme durch den Darm sehr ähnlich, indem er sich über den ersten Tag hinaus erstreckt.

Angesichts des Gegensatzes zwischen dem artfremden und dem arteigenen Serumeiweiß schien es erwünscht, das Verhalten auch anderer Eiweißarten bei parenteraler Zufuhr zu untersuchen. Die Auswahl geeigneter Körper machte unerwartete Schwierigkeiten. Es wurden zunächst die von Neumeister zu intravenöser Einführung benützten Syntonine und Alkalialbuminate geprüft, die großen Mengen, die mein Versuchszweck erforderte, erwiesen sich aber als so schädlich, daß ich von ihrer Verwendung absehen mußte. Auch die von Neumeister auf Grund der geringen oder nicht eintretenden Albuminurie als leicht ertragbar bezeichneten Stoffe konnten in großen Mengen ins Gefäßsystem eingespritzt, tötlichen Kollaps erzeugen. Als relativ unschädlich erwies sich bis jetzt nur ein aus Kuhmilch hergestelltes, von dem Grüblerschen Laboratorium unter dem Namen „Alkalialbuminat nach Hoppe-Seyler“ bezogenes Präparat. Es war erhalten durch Behandlung der Milch mit Alkali, Neutralisieren und Ausfällen mittels Essigsäure, Auswaschen und Entfetten durch Alkohol und Äther. Das weißgraue Pulver war in 0,15 prozentiger Lösung von Natrium bicarbonicum hinreichend löslich, so daß relativ große Mengen des Eiweißes in mäßigen Flüssigkeitsmengen enthalten waren. Die Folgen der intravenösen Einverleibung dieser Lösungen waren verschieden; manche Hunde zeigten deutliche Krankheitssymptome, nicht nur Fieber, sondern auch Prostration, unaufhörliches Erbrechen

und starke Beschränkung der Harnsekretion. Versuche dieser Art wurden als unbrauchbar bei Seite gelassen; sie blieben übrigens nur vereinzelt. Wiederholt wurden außer der stets vorhandenen meist leichten und rasch vorübergehenden Albuminurie nicht die geringsten Störungen des Befindens bemerkt; in anderen Fällen war die Störung sehr gering und ging in einigen Stunden vorüber. Aus dem Fehlen von Blut und Zylindern im Harn sowie aus der prompten Ausscheidung des Wassers ergab sich, daß eine schwerere und für die Versuchsergebnisse bedeutungsvolle Schädigung der Nieren trotz der Albuminurie nicht bestand.

Versuch III. Eine Schäferhündin von 6720 g erhielt täglich 220 g Pferdefleisch und 20 g Schweinefett. Nach Eintritt des N-Gleichgewichtes wurden 100 ccm einer Lösung von Alkalialbuminat, enthaltend 1,21 g N = 7,56 Eiweiß im Verlauf von 60 Minuten durch die vena pediaea eingeführt. Erbrechen trat nicht ein, der Hund blieb unverändert munter und beweglich, jedoch bestand erhöhte Temperatur, unmittelbar nach Beendigung des Versuches 39,1°, 2 Stunden später ebensoviel, nach weiteren 2 Stunden 38,4°, nach weiteren 3 Stunden 37,4°.

Die Tabelle zeigt links die N-Ausscheidung der ganzen Tage, rechts die der 8 stündigen durch Katheterisieren abgeteilten Intervalle, an denen eine etwaige N-Steigerung ganz besonders deutlich sein müßte. Die Injektion erfolgte zwischen der 16. und 17. Stunde des Versuchstages.

Tag	Harn-N.		1.—8.Stund.	9.—16. St.	17.—24.St.
1.—3.	6,38 p.d.				
4.	6,49				
5.	6,30				
6.	6,47				
7.	6,54		3,28	2,40	0,86
8.	6,96	Injektion	3,08	2,45	1,43
9.	5,90		2,65	2,30	0,95
10.	6,26		3,57	1,93	0,76
11.	6,25				
12.	6,21				
13.	6,09				

Die unmittelbar auf die Einspritzung folgende Steigerung der N-Ausscheidung [1]) bleibt weit hinter der eingeführten N-Menge zurück, überdies wird sie durch die folgende Senkung der Kurve derart ausgeglichen, daß die Vergleichung der dem Versuch vorausgehenden 6 Tage mit den folgenden 6 Tagen sogar eine Abnahme der N-Ausfuhr um 0,89 g N erkennen läßt.

1) Der geringe Gehalt des Harns an koagulablem N. ist abgerechnet.

Im Versuch IV erhielt dasselbe Tier, vier Tage nach Ablauf des vorigen Versuchs, 50 g Fleisch und 36 g Schweinefett; der N-Gehalt der Nahrung betrug 1,53 g N. Die Tabelle ergibt, daß das Tier während des Versuches langsam Körper-N abgab. Bei ziemlich konstantem Verlauf der N-Kurve wurden am 7. Tag 164 ccm Alkalialbuminatlösung durch die vena jugularis im Verlauf von 60′ (8.—9. Stunde) eingebracht. Außer vorübergehendem Zittern und etwas mattem Verhalten ergaben sich keine Störungen. Der eingebrachte N betrug 1,29 g.

Tag	Harn-N.		1.—8.Stund.	9.—16. St.	17.—24.St.
1.	2,73				
2.	1,80				
3.	1,77				
4.	2,04				
5.	2,12				
6.	2,17		1,29	0,48	0,40
7.	1,74	Injektion	0,84	0,57	0,36
8.	2,47		1.—12. St. 1,20		13.—24. St. 1,27
9.	2,07				
10.	1,62				

Eine wesentliche und unmittelbare Steigerung der N-Ausscheidung ist auch hier nicht zu erkennen; an dem der Einspritzung folgenden Tag ist sie zwar etwas höher als dem vorhergehenden Durchschnitt entspricht, der Unterschied bei Vergleichung der drei vorausgegangenen Tage mit den drei folgenden ist aber fast null.

Die Ergebnisse der vorstehenden Versuche lauten, in einen Satz zusammengefaßt, dahin, daß der Hund auf parenterale Zufuhr von artfremdem Serumeiweiß mit einer sehr rasch ablaufenden Steigerung der N-ausscheidung reagiert, daß dagegen eine solche vermißt wird bei Einverleibung von Caseinalbuminat und von frischem Hundeserum. Ein Versuch, den Gründen dieses verschiedenen Verhaltens nachzugehen, muß anknüpfen an die Vorrichtungen, mittels deren der Organismus den Abbau der in ihm kreisenden artfremden Eiweiße bewirkt. Zunächst allerdings ist zu fragen, ob die N-steigerung überhaupt auf die Zersetzung dieser Eiweiße zu beziehen ist. Schon Friedemann und Isaac haben sich diese Frage vorgelegt, und haben sie bejaht. Kraus(24) tritt ihnen hierin bei, indem er diese Annahme als „ungefähr ebenso berechtigt, wie bezüglich des per os gereichten Nahrungseiweißes“ bezeichnet. Die von den genannten Autoren beobachtete Erscheinung, daß bei reichlicher Darreichung von Kohlehydraten der immunisierte Hund den N des eingespritzten Eierklars sogar zum Ansatz bringt, würde ebenfalls, wie dies auch Kraus betont, für eine Analogie zwischen

5*

dem Verhalten des per os und des parenteral eingeführten Eiweißes sprechen. Der Hund macht dabei in seinen Körperzellen Fähigkeiten mobil, die normaler Weise nur den Zellen des Magendarmkanals zukommen. Nach einem zuerst von Hamburger(25) zum Ausdruck gebrachten Gedankengang ist im Laufe der phylogenetischen Entwicklung eine Arbeitsteilung zur Ausbildung gelangt, bei der die Darmzellen das ursprüngliche Vermögen aller Zellen, fremde Eiweißarten durch Absonderung von Antikörpern, d. h. hier von Fermenten, zu zerstören und zu assimilieren, hochentwickelt, die Körperzellen aber es verloren haben. Nach Friedemann und Isaac scheint be manchen Tieren, eben bei den Fleischfressern, dieser Verlust kein vollständiger und unwiderruflicher zu sein. Sie erfahren dabei freilich Widerspruch von Hamburger und Sluka, die ein derartiges gegensätzliches Verhalten nicht beobachten konnten.

Zu diesem gegensätzlichen Verhalten zwischen Fleisch- und Pflanzenfresser scheint zu stimmen, daß, wie zuerst Oppenheimer festgestellt hat, der Hund Eiweißinjektionen nicht mit Präzipitinbildung beantwortet. Beim Pflanzenfresser dagegen bilden sich diese Antikörper und gleichzeitig damit gewinnt er nach Friedemann und Isaac die Fähigkeit, das vorher unangreifbar gewesene Eiweiß zu zersetzen. Das Unvermögen des Hundes, Präzipitine zu bilden, möchte Kraus kaum auf den Mangel geeigneter Rezeptoren zurückführen, vielmehr werden „vermutlich diese in den Körperzellen des Hundes vorhandenen Rezeptoren nur sehr vorübergehend durch ihre Bindung an das artfremde Eiweiß außer Funktion gesetzt um sofort wieder frei zu werden.“

Es ist nicht leicht, auf Grund dieser Vorstellungen den Unterschied zwischen dem Caseinalbuminat und den anderen, bei parenteraler Zufuhr zersetzlichen Eiweißkörpern zu erklären. A priori erscheint es ebenso gut möglich, daß dieser Stoff besondere nicht ohne weiteres zu erfüllende Anforderungen an die assimilierenden Fähigkeiten der Hundezelle stellt, wie daß er einen zu geringen Reiz ausübt und als blander Körper zunächst einfach abgelagert wird. Gegen letzteres Verhalten spricht das Ergebnis einiger Versuche mit wiederholten Albuminateinspritzungen, die mit der Absicht unternommen wurden, vielleicht doch wie beim Pflanzenfresser gegenüber anfänglich nicht zerlegbaren Eiweißstoffen, Immunisierung und damit die Fähigkeit zur Zerlegung herbeizuführen. Die Versuche ergaben, daß keine Immunität eintrat, daß wenigstens ehe eine deutliche Erhöhung der N-ausscheidung nach Albuminateinspritzung eintritt, die Hunde kachektisch werden und sterben (s. u.). Das

im Körper abgelagerte Albuminat ist also offenbar schädlich und unterscheidet sich darin nicht von den anderen Eiweißstoffen, deren wiederholte Einverleibung in meinen Versuchen niemals Immunität, sondern stets schwere Störungen hervorbrachte. Es wird auf diesen Punkt später noch zurückzukommen sein. Hier sei nur bemerkt, daß es mir auch nicht gelang, Hunde mit Eierklar zu immunisieren, wie dies Friedemann und Isaac vermochten, meine Hunde wurden krank oder starben unter Marasmus.

Ob das Caseinalbuminat in den Körpersäften zirkuliert oder ob es unter Bindung in den Zellen aus dem Kreislauf verschwindet, wäre mittels der biologischen Reaktion nicht schwer festzustellen, jedoch mußte ich bisher, da mein Tiermaterial begrenzt war, davon absehen; auch die Feststellung, ob etwa Rinderserum sich in gleicher Weise wie das Albuminat der Kuhmilch verhält, mußte zurückgestellt werden. Für Schweineserum dagegen habe ich die biologische Methode zum Vergleich mit den Stoffwechseluntersuchungen herangezogen. Im Serum eines Hundes, dem 100 ccm Schweineserum intravenös beigebracht worden waren, zeigte sich bei Zusatz von Serum eines vorbehandelten Kaninchens im Laufe der ersten drei Tage nach der Injektion starke Niederschlagsbildung, die am 4. Tage deutlich schwächer, am 5. Tag eben noch erkennbar, am 6. Tag verschwunden war. Dies stimmt überein mit den Ergebnissen Hamburgers und seiner Mitarbeiter. Friedemann und Isaac fanden mittels der Moreschi-Neisser-Sachs'schen Methode (26) der Komplementablenkung die präzipitable Substanz nach Einspritzung von Pferdeserum mehrere Tage lang in fast unveränderter, nach einer Woche noch in erheblicher Menge vor. Dagegen war das Eiereiweiß bereits nach 4 Tagen nicht mehr nachweisbar. Obgleich also der N beider Eiweißarten sofort im Harn erscheint, zeigen sich in dem Ausfall der biologischen Reaktion markante Unterschiede zwischen beiden Eiweißsorten. Es ist wohl zuzustimmen, wenn die genannten Autoren daraus schließen, daß (bei Hunden) die biologische Methode die Frage nach der Assimilationsfähigkeit parenteral eingeführten Eiweißes zu lösen nicht geeignet ist (s. o.).

Einige Worte erfordert noch die Tatsache, daß das parenteral beigebrachte Hundeserum nicht zersetzt wurde. Die Eigentümlichkeit dieses Vorganges tritt deutlich hervor, wenn man, wie ich es tat, an demselben hungernden Hund Hundeserum zuerst per os, dann nach entsprechendem Intervall in annähernd gleicher Menge per venam einführt. Im ersteren Fall wird der größte Teil des im Serum enthaltenen N im Harn ausgeschieden. Im zweiten Fall erfolgt keine Änderung der N-kurve. Es ist also für den Eiweißzerfall des Hungerhundes von sehr verschiedener Bedeutung, ob eine bestimmte Eiweißmenge im Darm ab- und wieder aufgebaut wird oder ob sie in Gestalt von normalem Hundeserum in den Körper

eintritt. Der nächstliegende Schluß scheint mir der zu sein, daß der Darm das Nahrungseiweiß nicht in Gestalt der gewöhnlichen Hauptbestandteile des Blutserums, sondern in einer biologisch anders gearteten Modifikation an den Kreislauf abgiebt. Unsere Kenntnisse über die intimeren Vorgänge bei der Umwandlung des Nahrungseiweißes in Körpereiweiß sind ja leider noch sehr lückenhaft. Nach zahlreichen Versuchen, deren eingehendere Besprechung hier zu weit führen würde, gilt es als feststehend, daß die Darmwand die durch die Verdauungssäfte tief abgebauten Trümmer des Nahrungseiweißes zu arteigenem „ersten" Eiweiß aufbaut. Nach Abderhalden(27) „spricht vieles dafür, daß das erste Assimilationsprodukt eben die Plasmaeiweißkörper sind. Die Darmzellen sezernieren diese gewissermaßen in die Blutbahn". Die von demselben Autor und seinen Mitarbeitern (27, 28) mehrfach erwiesene Tatsache, daß der Aminosäurengehalt des Plasmaeiweißes in hohem Grade konstant bleibt bei ganz verschiedenem Gehalt des Nahrungseiweißes an diesen Körpern, würde eine große Unabhängigkeit dieser aufbauenden Fähigkeit der Darmwand von dem gelieferten Baumaterial erweisen. — Meine Ergebnisse scheinen dazu zu führen, daß das resorbierte Nahrungseiweiß mindestens biologisch sich von den „stabileren" Hauptbestandteilen der Blutflüssigkeit als „labiles", die eigentliche Eiweißnahrung der Zellen darstellendes Eiweiß unterscheidet. Eine genauere Aufklärung über die Art dieses labilen Eiweißstoffes dürfte allerdings vielleicht schwierig sein, da derselbe vermutlich nur in jeweils sehr kleinen Mengen sich in Zirkulation befinden und sehr rasch aus der Blutbahn verschwinden wird.

Neuerdings ist Freund(29) auf anderem Wege zu ähnlichen Schlußfolgerungen gelangt. Er entnimmt einer ziemlich komplizierten Versuchsanordnung, daß die Leber wohl in dem aus dem Darm ihr zuströmenden Blut, nicht aber in dem Blut des allgemeinen Kreislaufes Eiweißabbau bewirke. Es würde daraus hervorgehen, daß der Darm ein besonders geprägtes labiles Eiweiß an das Blut abgibt. Freund glaubt dasselbe in Gestalt einer Pseudoglobulinfraktion genauer bestimmt zu haben.

Im Hungerzustand scheinen ähnliche Verhältnisse zu herrschen. Zwar werden im Hunger auch die Plasmaeiweiße angegriffen. Nach Burkhardt(30) werden die Bestandteile des Blutserums im Hunger in der Weise verändert, daß sich der Paraglobulingehalt vermehrt, das Serumalbumin vermindert, das Gesamteiweiß um 4—14 Proz. sinkt. Zum Teil scheint also das Plasmaeiweiß zur Deckung des Eiweißbedarfes herangezogen zu werden, doch tritt dieser Teil sehr

zurück gegenüber den großen aus der Muskulatur eingeschmolzenen Eiweißmengen. Auch im Hunger dürfte das Blut mehr dem Transport kleiner aus jenen Depots hervorgehender „labiler“ Eiweißmengen dienen. Damit würde es sich erklären, daß eine plötzliche Überschwemmung des hungernden Organismus mit normalem arteigenem Serum zunächst den Eiweißzerfall nicht beeinflussen kann. Bei der Mobilmachung dieses labilen Eiweißes aus den Eiweiß abgebenden Organen würde vielleicht eine Wirkung spezifischer Enzyme im Sinne Grubers (a. a. O. S. 414) anzunehmen sein.

Die zunächst lediglich theoretischen Erörterungen vorstehender Arbeit lenken schließlich die Aufmerksamkeit auf das praktische Problem der parenteralen Eiweißernährung, angesichts der mannigfachen und gerade neuerdings wieder mehr gepflegten Versuche auf diesem allerdings verlockenden Gebiet. Eine genauere Betrachtung der bei parenteraler Eiweißzufuhr in Betracht kommenden Prozesse läßt die Aussichten derartiger Bestrebungen als wenig hoffnungsvoll die bisherigen Versuche jedenfalls als praktisch bedeutungslos erscheinen. Bei Anwendung der verschiedenen Präparate konnten bestenfalls nur sehr geringe Mengen ohne Störungen parenteral einverleibt werden. Injiziert man größere Mengen, so machen sich, auch wenn das Eiweiß abgebaut und energetisch verwertet werden kann, Verhältnisse geltend, die die Methode von vornherein als klinisch verfehlt erkennen lassen. Der Mechanismus des Abbaus artfremden Eiweißes durch die Körperzellen ist von dem normalen Abbau des durch den Darm aufgenommenen Eiweißes verschieden, ihm physiologisch nicht gleichwertig. Wenn der Hund zunächst das körperfremde Eiweiß anscheinend (s. u.) ohne Schaden zu zerlegen vermag, so ist nach den Ergebnissen der schon genauer erörterten Arbeiten nicht ohne weiteres anzunehmen, daß auch die menschlichen Körperzellen sich damit abzufinden vermögen. Es liegen im Gegenteil genug Beobachtungen vor, die für den menschlichen Organismus sehr unerwünschte und tiefgreifende Folgen der parenteralen Einfuhr fremden Eiweißes dartun. Die Bestrebungen, hochwertige Heilsera herzustellen, sind ja in erster Linie veranlaßt gewesen durch die mißlichen, als Giftwirkung des artfremden Serums zu erklärenden Nebenwirkungen der Antitoxineinspritzung, die allen Praktikern geläufig sind. Sie bestehen bekanntlich in urtikariaähnlichen Ausschlägen, schmerzhaftem entzündlichen Ödem in der näheren oder weiteren Umgebung der Injektionsstelle, Glieder- und Gelenkschmerzen, allgemeinem Krankheitsgefühl. Vereinzelt sind derartige Zustände in so hohem Grade aufgetreten, daß dadurch die Einführung

der Serumbehandlung erschwert wurde. Diese „Serumkrankheit“ konnte erst mit der Erweiterung unserer Kenntnisse über den Immunisierungsvorgang besser verstanden werden.

Die umfassendste Darstellung und klinische wie experimentelle Bearbeitung der hierhergehörigen Erscheinungen haben v. Pirquet und Schick(31) geliefert. Dabei wendeten sie ihr Augenmerk namentlich der sofortigen, bezw. beschleunigten Reaktion zu, die sich bei der zweiten und den folgenden Injektionen im Gegensatz zu der langsam und leichter auftretenden Reaktion nach der ersten Injektion einstellt. Diese Erscheinung entspricht der schon länger bekannten Überempfindlichkeit, die schon früher Richet(32) bei Einspritzung von Aktiniengift studiert hat. Arthus(33) sah bei Kaninchen nach Injektion von Pferdeserum und Milch Überempfindlichkeit auftreten; sie ist nach v. Pirquet und Schick 5 Tage nach der ersten Injektion noch nicht, dagegen nach 10 Tagen schon deutlich vorhanden, nimmt bei weiteren Injektionen zu, ist dauernd und streng spezifisch. Es tritt also nach Injektionen artfremden Serums keine Immunität ein, woraus Wolff(34) einen prinzipiellen Unterschied des Serums von Körpern, die wahres Antitoxin hervorrufen, entnimmt. Andere Untersucher gelangten nicht zu einer derart scharfen Unterscheidung, Hamburger(13) schließt aus einer allmählichen Verminderung der nach Eierklar eintretenden Albuminurie auf eine Gewöhnung des Organismus. Vielleicht liegen den nicht übereinstimmenden Ergebnissen individuelle Verschiedenheiten zu Grunde, wie sie von v. Pirquet und Schick mehrfach beobachtet werden konnten.

Immerhin tritt die „Serumkrankheit“ bei wiederholter Injektion mit solcher Regelmäßigkeit in Erscheinung, daß sie geradezu ein Kriterium für die Diagnose einer bereits durchgemachten gleichen Vergiftung darstellt. Diese größtenteils an Menschen und mit Pferdeserum (Heilserum gegen Diphtherie und Scharlach) gemachten Beobachtungen lassen erkennen, was man von therapeutischen Versuchen parenteraler Eiweißernährung zu erwarten hat. Es muß bezweifelt werden, ob sich zerlegbare Eiweißkörper werden finden lassen, deren wiederholte parenterale Darreichung ohne Schädigungen für den Organismus einherginge. Vermutlich ist die Möglichkeit der Zerlegung des fremden Eiweißes überhaupt untrennbar mit jenen dauernden Zellveränderungen verbunden, die sich als Überempfindlichkeit äußern können.

Bei den Versuchen von Friedemann und Isaac an vorbehandelten Ziegen ergab sich, daß mit der Präzipitinbildung sich zwar eine vorher fehlende Fähigkeit, fremdes Eiweiß zu zerlegen, aber gleichzeitig auch eine Überempfindlichkeit ausbildete, die sich bei weiterer Einverleibung des fremden Eiweißes als tödliche Krankheit äußerte. Die Autoren bezeichnen demgemäß die dauernde Schädigung, die dem Organismus des Pflanzenfressers mit Erwerbung der Zersetzungsfähigkeit für fremdes

Eiweiß zugefügt wird, als die „Kosten“ dieses Verfahrens. Dagegen nehmen sie an, daß der parenterale Abbau des Eiweißes beim Fleischfresser (Hund) „etwas ganz Physiologisches und Indifferentes“ sei. Das Vorhandensein eines durchgreifenden Unterschiedes in der parenteralen Eiweißzersetzung zwischen Fleisch- und Pflanzenfresser wird nun allerdings von Hamburger und Sluka nicht anerkannt. Ich selbst verfüge über eine Anzahl von Versuchen, die ergeben, daß auch der Hund hinsichtlich der Überempfindlichkeit und hinsichtlich der dadurch bedingten tödlichen Eiweißvergiftungen nichts vor dem Pflanzenfresser voraus hat. Wiederholt wollte ich Hunde zweimal zu Stoffwechselversuchen mit Schweineserum benützen; seit der ersten Injektion waren jeweils 2 bis 3 Wochen verstrichen. Die Tiere, die die erste Injektion von 150 bis 200 ccm ohne schwerere Folgen ertragen hatten, kollabierten nunmehr schon nach wenigen ccm und starben ausnahmslos. Ähnliches fand ich, wie schon erwähnt, bei Injektion von Kaseinalbuminat. Dieses für den Hund nicht zerlegbare Eiweiß suchte ich durch Immunisierung angreifbar zu machen. Dabei zeigte sich, daß bei der zweiten und dritten Injektion einer größeren Menge des Albuminats, im Gegensatz zur ersten Injektion schwere Krankheitserscheinungen (Kollaps, Erbrechen) eintraten. Die N-Kurve zeigte bei diesem Zustand starke Schwankungen, so daß es nicht ersichtlich wurde, ob ein Teil des eingespritzten Albuminats zersetzt wurde, jedenfalls könnte es nur ein kleiner Teil gewesen sein. Bei der vierten Injektion, vier Wochen nach der ersten, verfiel das Tier einer rasch zum Tode führenden Vergiftung. Es blieb also unentschieden, ob der Hund im Verlaufe der Behandlung die Fähigkeit, das Albuminat abzubauen gewann; aber auch diesem Körper gegenüber zeigte sich die Änderung des organismus nicht als Immunität, sondern als Überempfindlichkeit.

Literatur.

1) Leube, Verhandlungen des Kongresses f. innere Medizin, 1895, S. 418.
2) Zuntz und v. Mering, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 32.
3) Stockvis, Zentralblatt f. d. mediz. Wissenschaften, 1864, S. 596.
4) Ponfick, Virchows Arch., Bd. 62. S. 278.
5) Ott, Virchows Arch., Bd. 93, S. 114.
6) Neumeister, Verhandlungen d. phys.-mediz. Gesellsch. in Würzb 1889,
7) Munk und Lewandowski, Arch. f. Physiol. (Engelmanns) 1899. Supplem.
8) Lilienfeld, Zeitschr. f. phys. und diätet. Therapie, 1899.
9) Friedenthal und Lewandowski, Archiv f. Physiol. (Engelmanns) 1899, S. 531.
10) Oppenheimer, Hofmeisters Beiträge z. chem. Phys. u. Path., Bd. 4, 1904.
11) Michaelis und Oppenheimer, Arch. f. Physiol. (Engelmanns) 1902. Suppl. S. 336.
12) Ehrlich, Das Sauerstoffbedürfnis des Organismus, Berl. 1886.
13) Hamburger, Wiener klin. Wochenschr. 1902.
14) v. Dungern, Die Antikörper, Jena 1903.

15) Hamburger und Moro, Wiener klin. Wochenschr. 1903.
16) Hamburger und v. Reuss, ebenda, 1904.
17) Friedemann und Isaac, Zeitschr. f. experim. Path. u. Ther. Bde. 1 u. 3, 1905 u. 1906.
18) Hamburger und Sluka, Wiener klin. Wochenschr. 1905.
19) Gruber, Zeitschr. f. Biolog. N. F. Bd. 24, 1901.
20) Falta, Deutsch. Arch. f. klin. Med. Bde. 81 u. 86, 1904 u. 1906.
21) Forster, Zeitschr. f. Biologie, Bd. 11, 1875, S. 496.
22) Pflüger, Arch. f. d. ges. Physiol., Bd. 54, 1893, S. 333.
23) Vogt, Hofmeisters Beiträge, Bd. 8, 1906.
24) Kraus, in v. Noordens Handb. d. Path. d. Stoffwechsels, Berlin 1906, Bd. I, S. 586 ff.
25) Hamburger, Arteigenheit und Assimilation, Leipzig-Wien, 1903.
26) Neisser und Sachs, Berlin. klin. Wochenschr., 1905.
27) Abderhalden, Funk und London, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 51, 1907, S. 269.
28) Abderhalden und Samuely, ebenda, Bd. 46, 1905, S. 193.
29) Freund, Zeitschr. f. exper. Path. u. Ther. 1907.
30) Burkhardt, Arch. f. exper. Path. u. Pharm. 16, S. 322.
31) v. Pirquet und Schick, Die Serumkrankheit, Leipzig und Wien, 1905.
32) Richet, Archivio di fisiologia, 1904.
33) Arthus, Soc. de biolog. 1903.
34) Wolff, Berl. klin. Wochenschr. 1904.

III.

Aus der medizinischen Universitätsklinik zu Greifswald. (Direktor Professor Dr. O. Minkowski.)

Über die Harnsäureverbindung der Nucleinsäure.

Von

Dr. Y. Seo aus Tokio.

(Mitgeteilt von O. Minkowski).

Auf dem Kongreß für innere Medizin 1900 berichtete Minkowski[1]) über folgende Beobachtung: „Versetzt man eine alkalische Lösung von chemisch reiner Nucleinsäure mit einer gewissen Menge von gelöstem harnsauren Natrium, so fällt auf Zusatz von Essigsäure die Harnsäure nicht aus."

Unabhängig davon und gleichzeitig hat Goto[2]) dieselbe Erfahrung gemacht. Beide Autoren schlossen aus ihren Beobachtungen, daß die Harnsäure mit der Nucleinsäure eine Verbindung eingeht, in welcher sie durch die gebräuchlichen Fällungsmittel nicht nachweisbar wird und selbst bei saurer Reaktion gelöst bleibt.

His[3]), der die Löslichkeitsverhältnisse der Harnsäure und ihrer Salze einer eingehenden Untersuchung unter Zugrundelegung der modernen physikalisch-chemischen Methoden und Anschauungen unterzog, gelangte zu dem Schlusse, daß die Verbindung der Harnsäure mit Nucleinsäure „zu Recht besteht". Er wies darauf hin, daß salzartig und organisch gebundene Salzsäure sich beim Ansäuern ihrer Lösungen verschieden verhalten: die salzartig gebundene Harnsäure fällt vollständig aus, wenn man, um eine Übersättigung der Lösung zu verhindern, der Flüssigkeit eine bekannte Menge feingepulverter kristallisierter Harnsäure (als „Keimsalz") zusetzt, und sie längere Zeit im verschlossenen Gefäße der Rotation unterwirft: die organisch gebundene kann auch unter solchen Verhältnissen in Lösung

1) Minkowski, Verhandlungen d. XVIII. Kongreß für innere Medizin, Wiesbaden 1900, S. 438.

2) Goto, Zeitschrift für physiolog. Chemie, Bd. 42, 43, 1900.

3) His, Die harnsauren Ablagerungen des Körpers und die Mittel zu ihrer Lösung. Therapie der Gegenwart 1901, S. 434.

bleiben. Unter Anwendung dieser „Rotationsmethode“ konnte Bloch[1]) die Versuche von Minkowki und Goto bestätigen. Während aus einer einfachen Lösung von harnsaurem Natrium 99,57 Proz. der Harnsäure nach 47stündiger Rotation wieder ausgefallen waren, fanden sich nach Zusatz von nucleinsaurem oder thyminsaurem Natron nur Bruchteile der verwandten Harnsäure wieder (14—60 Proz., je nach der Menge der zugefügten Nucleinsäure).

Minkowski[2]) knüpfte an seine Beobachtungen die Hypothese, daß „wie die übrigen Purinverbindungen, so auch die Harnsäure im Blute und in den Gewebssäften zunächst als Nucleinsäureverbindung auftritt, und daß durch diese Paarung mit dem Nucleinsäurerest nicht nur der Übergang der Purinbasen in Harnsäure, sondern auch die Lösung und der Transport, sowie das weitere Schicksal der Harnsäure im Organismus geregelt wird.“ Er hielt es für möglich, daß ein abnormes Verhalten des mit der Harnsäure verbundenen Atomkomplexes bei den Anomalien des Harnsäureumsatzes, speziell bei der Gicht, eine Rolle spielen könnte.

Direkte Beweise zur Begründung einer solchen Annahme hat Minkowski nicht beigebracht. Obwohl daher seine Hypothese bei vielen Autoren Anklang gefunden hatte[3]), wurde sie bald wieder als unwahrscheinlich bezeichnet, nachdem von verschiedenen Seiten Einwände gegen sie erhoben wurden. Es wurde zunächst, so von Soetbeer[4]) und Ebstein[5]), ein Widerspruch gegen die Minkowkische Hypothese in einer Angabe von Weintraud[6]) erblickt, der aus dem Aderlaßblute eines gesunden Mannes, welcher tags zuvor reichlich Kalbsthymus verzehrt hatte, 7 mg reine Harnsäure darstellen konnte. Das Auftreten der fällbaren Harnsäure in diesem Falle sollte gegen

1) Bloch, Deutsch. Archiv für klinische Medizin. Bd. 83, S. 517, 1905. Für die hier in Betracht kommenden Versuche von Bloch treffen die von Nicolaier und Dobrn (Ibid. Bd. 91, S. 151, 1907) gegen die Hissche Methode erhobenen Bedenken nicht zu, da diese sich nur auf die Anwendbarkeit der Methode für die quantitative Bestimmung der Harnsäure im Harn beziehen.

2) Minkowski, Die Gicht in Nothnagels Spezielle Pathologie und Therapie. Bd. VII 2, S. 190, 1903.

3) S. z. B. von Noorden, British medical Journal, 24. September 1904 pag. 740. Krehl, Pathologische Physiologie. V. Aufl., S. 464, 1907

4) Soetbeer, Über den Einfluß der Nahrungsaufnahme auf die Ausscheidung der Harnsäure bei Gicht. Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd. 40, S. 75, 1903.

5) Ebstein, Die Natur und Behandlung der Gicht. II. Aufl. Wiesbaden 1906, S. 145.

6) Weintraud, Die Harnsäure im Blut und ihre Bedeutung für die Entstehung der Gicht. Wiener klinische Rundschau, 1896, Nr. 1 und 1.

die Bindung der Harnsäure an Nucleinsäure sprechen, weil ja reichlich Nucleinsäure mit der Nahrung zugeführt war. Dieser Einwand erscheint jedoch nicht entscheidend. Einmal konnte bereits bei der Verdauung des Kalbsthymus im Darme ein Teil der Nucleinsäure zersetzt sein, und dabei durch die Darmfäulnis Vorstufen der Harnsäure (Hypoxanthin!) entstanden sein, die zu einer Überschwemmung des Blutes mit Harnsäure Anlaß gaben. Dann konnte bei der Enteiweißung des Blutes schon eine Abspaltung von Harnsäure aus der leicht zersetzlichen Nucleinsäureverbindung stattgefunden haben (s. u. S. 85), und schließlich war es nicht ausgeschlossen, daß in dem von Weintraud untersuchten Blute neben der dargestellten Harnsäure noch eine größere Menge gebundener enthalten sein konnte. Denn die Überschwemmung des Organismus mit Harnsäure war in diesem Falle eine sehr große, wie aus den im Harne ausgeschiedenen Harnsäuremengen hervorging.

Eher könnte eine Beobachtung von Bloch (l. c.) bei einem ähnlichen Versuche zu Gunsten der Minkowskischen Hypothese gedeutet werden. Bloch vermochte, ähnlich wie Meisenberg[1]), auch nach Verfütterung von Nucleinsäure aus dem angesäuerten Harn nach dem Hisschen Rotationsverfahren die Harnsäure vollständig wiederzugewinnen. In 200 ccm Blutserum konnte er jedoch nach Nucleinsäurefütterung durch Analyse 8 mg, durch Rotation nur 4,3 mg Harnsäure nachweisen. Es schien daher, daß ein Teil der Harnsäure im Blute fester, nicht salzartig, gebunden war.

Der hauptsächlichste Einwand gegen die Minkowskische Hypothese wurde jedoch aus Versuchen von Schittenhelm und Bendix[2]) hergeleitet, denen es bei Kaninchen nicht gelang, durch gleichzeitige intravenöse Injektion von α-thymonucleinsaurem Natron und in Piperazin gelöster Harnsäure eine vermehrte Harnsäureausscheidung im Urin zu erzielen, und die bei diesen Versuchen auch die gleichen Ablagerungen von Harnsäurekristallen in den Nieren beobachteten, wie sie Ebstein und Bendix[3]) nach alleiniger Injektion von Harnsäure gefunden hatten.

Es mußte indessen fraglich erscheinen, ob diesen Versuchen von Schittenhelm und Bendix eine solche Beweiskraft innewohnte. Bloch bemerkte bereits, daß diese Versuche nicht gerade zur Entscheidung des vorliegenden Problems geeignet scheinen, da die In-

1) Meisenberg, Deutsch. Archiv für klinische Medizin, Bd. 87, S. 434, 1906.

2) Schittenhelm u. Bendix, Deutsche medizinische Wochenschrift. 1904, Nr. 32, S. 1164.

3) Ebstein u. Bendix, Virchow's Archiv, Bd. 178, 1904.

jektionen der Nucleinsäure schwere Nierenschädigungen zur Folge hatten. Dazu kommt, das Schittenhelm und Bendix offenbar im Verhältnis zu den injizierten Nucleinsäuremengen viel zu große Harnsäuremengen eingespritzt haben: in 2 Versuchen je 0,5 g Ü und nucleinsaures Natron, also sogar mehr Harnsäure als Nucleinsäure, und nur in einem Versuche 1 g nucleinsaures Natron neben 0,4 g Ü. Reichten diese Mengen von Nucleinsäure nicht aus, um die injizierte Harnsäure zu binden, so war es nicht weiter auffallend, wenn der Überschuß der Harnsäure die gleichen Veränderungen in den Nieren hervorrief, wie die alleinige Injektion von Harnsäure, ganz abgesehen davon, daß die direkte Injektion von 0,5 g Harnsäure in das Blut eines Kaninchens eine solche Überschwemmung mit Harnsäure bedeuten mußte, wie sie im Stoffwechsel niemals, auch nur annähernd vorkommen kann. Die Menge entspricht ja der intravenösen Injektion von etwa 15 g Ü in das Blut eines Menschen! Dazu kam noch, daß es zweifelhaft sein konnte, ob die gleichzeitige Zufuhr von nucleinsaurem Natrium und harnsaurem Piperazin ausreichend war, um das Zustandekommen der fraglichen Verbindung zu ermöglichen.

Um ein sicheres Urteil über den Einfluß der Nucleinsäure auf das Schicksal der Harnsäure im Organismus zu gewinnen, erschien es notwendig:

1. zu prüfen, ob eine Verbindung der Nucleinsäure mit Harnsäure sich direkt oder in Form eines Salzes darstellen läßt,

2. festzustellen, in welchem Verhältnis die in dieser Verbindung enthaltene Harnsäuremenge zur Nucleinsäuremenge steht,

3. zu untersuchen, ob die in Form dieser Verbindung in den Organismus eingeführte Harnsäure sich anders verhält, als die in gleicher Menge ohne Nucleinsäure eingeführte.

Zu diesen Untersuchungen stellte mir Herr Prof. Minkowski ein Nucleinsäurepräparat zur Verfügung, welches von der Firma C. Boehringer und Söhne in Mannheim aus Heringstestikeln dargestellt war.

Das Präparat bildete ein fast rein weißes Pulver, welches sauer reagierte und vollkommen biuretfrei war. 1 g dieser Nucleinsäure löste sich in Wasser auf Zusatz von 2,9 ccm 1/1 normal Natronlauge; konzentrierte Lösungen des Natronsalzes waren gelatinös. Die Lösung gab mit ammoniakalischer Silberlösung keinen Niederschlag. Die im Schwefelsäure-Exsiccator bis zur Gewichtskonstanz 10 Tage lang getrocknete Nucleinsäure ergab bei der Analyse:

1. Stickstoffgehalt (nach Kjeldahl) 15,23 Proz.
2. Phosphorgehalt (nach Veraschung mit Soda und Salpeter als $Mg_2P_2O_7$ gewogen) 9,677 Proz.

3. Purinbasenstickstoff (nach Spaltung durch vierstündiges Kochen mit 3 proz. Schwefelsäure und Ausfällen mit Kupfersulfat und Natriumbisulfit, Zersetzen des Niederschlags mit SH_2 und Ausfällung mit ammoniakalischer Silberlösung) 7,58 Proz.

Ein durch Fällung einer neutralen Lösung des Natriumsalzes dieser ucleinsäure mit Kupferchlorid dargestelltes, wiederholt durch Lösen essigsaurem Natron und erneutes Fällen mit Kupferchlorid gereinigtes ıd bis zum Verschwinden der Chlorreaktion gewaschenes Kupfersalz gab bei der Analyse nach dem Trocknen im Exsiccator und bei 105° C:

Stickstoff 13,46 Proz.

Phosphor 8,28 Proz.

Kupfer (durch Extraction der Asche mit Salzsäure, Ausfällen mit ıOH und Glühen des Cu $(OH)_2$ als CuO gewogen) 9,5 Proz.

Ich überzeugte mich zunächst davon, daß diese Nucleinsäure in zug auf die Fähigkeit, Harnsäure in Lösung zu halten, ch ebenso verhielt, wie es Minkowski und Goto beschrieben ıben[1]):

1. 0,5 g Nucleinsäure und 0,1 g durch Umkristallisieren geinigte Harnsäure wurden in Wasser mit einem Überschuß von ıtronlauge gelöst, dann nach einer halben Stunde mit Essigsäure stark ersäuert und auf 100 ccm Lösung gebracht, alsdann 24 Stunden hen gelassen. Es schied sich keine Harnsäure aus.

2) 0,5 Nucleinsäure und 0,2 Harnsäure in gleicher Weise behandelt, ɔrden nach dem Ansäuern mit Essigsäure 48 Stunden stehen gelassen. ı scheidet sich ein kristallinischen Sediment von Harnsäure aus, elches auf dem Filter gesammelt, 0,0388 g wiegt.

3. 0,5 g Nucleinsäure und 0,2 g Harnsäure werden in 50 ccm asser mit geringem Überschuß von Natronlauge gelöst, alsdann CO_2 starkem Strome eine Stunde lang durchgeleitet. Es scheidet sich ıch nach 72stündigem Stehen keine Harnsäure aus.

Gegenüber ammoniakalischer Silberlösung zeigte die ucleinsäure und Harnsäure enthaltende Lösung ein eigentümliches erhalten: wurde zu der mit Essigsäure übersäuerten opalescieren-n Lösung zuerst eine Silbernitratlösung und dann ein Überschuß n Ammoniak hinzugesetzt, dann blieb die Lösung vollkommen klar ıd hell, auch bei längerem Stehen. Wurde dagegen zuerst die eiche Menge Ammoniak und dann die Silberlösung hinzugefügt, dann ıt sofort ein flockiger Niederschlag von harnsaurem Silber auf.

Eine genauere Bestimmung des Lösungsvermögens der Nucleinure für Harnsäure stieß auf große Schwierigkeiten. Zwar zeigte sich, daß im allgemeinen, wie es Minkowski, Goto und Bloch hon gefunden hatten, um so mehr Harnsäure in Lösung blieb, je

1) Lange aufbewahrte Präparate von Nucleinsäure scheinen diese Fähigkeit verlieren.

größer der Gehalt an Nucleinsäure war, ein bestimmtes Verhältnis zwischen der Menge beider Substanzen konnte jedoch nicht ermittelt werden. Abgesehen davon, daß die überschüssige Harnsäure aus übersättigten Lösungen sich oft nur sehr langsam ausschied, kam auch in Betracht, daß die Nucleinsäure bei längerem Stehen in sauerer Lösung sich auch bei Zimmertemperatur allmählich zersetzt.

Es wurde daher der Versuch gemacht, eine in der Lösung etwa enthaltene Nucleinsäure-Harnsäureverbindung zu isolieren. Zu diesem Zwecke wurde zunächst 1,0 g Nucleinsäure und 0,5 g Harnsäure mit überschüssiger Natronlauge in 100 g Wasser gelöst und mit Essigsäure übersäuert. Nach 32 Stunden hatten sich 0,1348 g Harnsäure ausgeschieden, die abfiltriert wurden. Das Filtrat wurde unter Eiskühlung mit konzentrierter Salzsäure versetzt, so lange Niederschlag erfolgte. Es schied sich ein großflockiger, homogener amorpher farbloser Niederschlag ab, der sich sofort zu Boden senkte. Er wird auf dem Filter gesammelt, mit wenig Wasser gewaschen und abgepreßt.

Dieser Niederschlag zeigt folgende Eigenschaften:

1. Er gibt deutliche Murexidreaktion.

2. Bei vorsichtigem Erwärmen löst sich der Niederschlag im Wasser unter Opalescenz, es scheidet sich aber, selbst auf Zusatz von Essigsäure, keine Harnsäure beim Abkühlen aus. Kocht man aber längere Zeit mit Essigsäure, dann tritt auf einmal noch während des Kochens, dann stärker beim Abkühlen ein reichlicher kristallinischer Niederschlag von Harnsäure auf.

3. Die Lösung des Niederschlags in Wasser gibt auf Zusatz einer Silbernitratlösung nur eine Trübung von Chlorsilber, die sich nach dem Hinzufügen von Ammoniak auflöst, ohne daß ein flockiger Niederschlag auftritt. Fügt man aber zuerst einen Überschuß von Ammoniak und dann die Silberlösung hinzu, dann entsteht sofort ein flockiger Niederschlag von harnsaurem Silber.

4. Bei vorsichtigem Zusatz einer verdünnten Ammoniaklösung löst sich der Niederschlag schon in der Kälte sehr leicht und vollkommen klar ohne Opalescenz auf. Fügt man einen stärkeren Überschuß von Ammoniak hinzu, dann entsteht nach einer Weile eine milchige Trübung, die sich allmählich als amorpher Niederschlag ausscheidet. Dieser Niederschlag, der offenbar aus harnsaurem Ammoniak besteht, gibt Murexidreaktion und wandelt sich auf Zusatz von Essigsäure in kristallinische freie Harnsäure um.

5. Aus der schwach ammoniakalischen Lösung scheidet sich auf Sättigung mit Salmiak kein harnsaures Ammoniak aus.

War es demnach nach diesem Verhalten wahrscheinlich, das der Niederschlag nicht nur aus einem Gemenge von Nucleinsäure und Harnsäure bestand, sondern eine Verbindung beider Substanzen darstellte, so ging doch andererseits auch hervor, daß diese Verbindung nur eine lockere und leicht zersetzliche sein konnte. Man durfte nicht erwarten auf diesem Wege eine Substanz von konstanter Zusammensetzung zu gewinnen, die zu genaueren Analysen geeignet gewesen wäre.

Aussichtsvoller erschien es, die Nucleinsäure-Harnsäureverbindung in Form eines Metallsalzes zu isolieren, und zwar schien dazu die Kupferverbindung besonders geeignet. Wir wählten ein Verfahren, wie es Schmiedeberg[1]) angewandt hatte, um nachzuweisen, daß die gewöhnliche Nucleinsäure noch größere Mengen von Purinbasen zu binden imstande ist, und um eine an Purinbasen reichere Nucleinsäure darzustellen. Schmiedeberg löste frisch bereitetes, nicht vorher getrocknetes nucleinsaures Kupfer mit einem Gemenge von Adenin und Guanin zusammen in kalihaltigem Wasser, erwärmte die Lösung 10—15 Minuten auf 40—50°, kühlte dann ab, säuerte mit Essigsäure an, filtrierte und fällte mit Kupferchlorid. Die Elementaranalyse des Niederschlags ergab einen größeren N- und geringeren P-Gehalt und es entsprach die Zusammensetzung des Präparates einer purinbasenreicheren Nucleinsäure, die sich in ihren Eigenschaften nicht wesentlich von der gewöhnlichen Salmonucleinsäure unterschied.

Diesen Untersuchungen Schmiedebergs gegenüber machte allerdings Burian[2]) den Einwand, daß es sich nicht um eine einheitliche Verbindung, sondern nur um ein Gemenge von nucleinsaurem Kupfer mit Adenin- und Guanin-Kupfer handeln konnte, weil aus der alkalihaltigen Purinbasenlösung durch Kupferchlorid die Kupferverbindung der Purinbasen niedergeschlagen werde.

Einem solchem Einwande glaubten wir dadurch entgehen zu können, daß es uns gelang, bei verschiedenen, mit kleinen Abweichungen ausgeführten Versuchen Präparate darzustellen, die nach Reinigung durch Auflösung in schwach saurem Natriumacetat und wiederholte Ausfällung mit Kupferchlorid eine gleichmäßige Zusammensetzung zeigten, welche einem bestimmten molekularen Verhältnisse der Nucleinsäure zu der Harnsäure entsprach.

---

1) Schmiedeberg, Über die Nucleinsäure der Lachsmilch. Archiv für exp. Path. und Chemie, Bd. XVIII, S. 72, 1900.

2) Burian, Ergebnisse der Physiologie 1900, Bd. III, S. 53.

Zunächst überzeugten wir uns, daß aus einer schwach sauren Nucleinsäure-Harnsäure-Lösung durch Kupferchlorid eine Harnsäure enthaltende Kupferverbindung niedergeschlagen werden kann. Der Kupferniederschlag unterschied sich schon durch seine mehr graugrünliche Farbe von dem hellblau gefärbten reinen nucleinsauren Kupfer. Eine Stickstoffbestimmung des chlorfrei gewaschenen Niederschlags ergab einen Gehalt von 16,67 Proz. N bei einem Aschegehalt von 22,3 Proz. Die Verbindung war also erheblich stickstoffreicher als das nucleinsaure Kupfer.

Nach 3 stündigem Kochen mit verdünnter Schwefelsäure konnte aus diesem Niederschlage nach Ludwig-Salkowski Harnsäure dargestellt werden.

Für die genaueren Analysen war es wesentlich, daß wir von einer Nucleinsäurelösung ausgingen, die mit Harnsäure gesättigt, aber nicht übersättigt war.

Wir stellten folgende 3 Versuche an:

I. 2,0 g Nucleinsäure und 1,0 g Harnsäure werden mit einem Überschuß von 1/1 normal Natronlauge in 100 ccm Wasser gelöst, nach einer halben Stunde mit Essigsäure stark angesäuert, dann noch 0,1 g Harnsäure in Kristallform (als Keimsalz) beigefügt und im Schüttelapparat 24 Stunden lang geschüttelt. Hierauf wird abfiltriert und das Filtrat wiederholt durch dasselbe Filter gegossen. Es bleiben auf dem Filter im ganzen (einschließlich der zugesetzten 0,1 g) 0,6244 Harnsäure. Das Filtrat wird mit einer reinen Kupferchloridlösung ausgefällt, der Niederschlag sorgfältig bis zur Chlorfreiheit gewaschen, dann in einer schwach sauren Lösung von Natriumacetat gelöst, filtriert und von neuem mit Kupferchlorid gefällt. Dieser Niederschlag wieder sorgfältig mit Wasser, dann mit Alkohol gewaschen, im Schwefelsäureexsiccator bis zur Gewichtskonstanz getrocknet, und zu folgenden Analysen verwandt:

1. 0,3948 g verlieren beim Erhitzen auf 105° C 0,0347 g entsprechend 8,78 Proz. H_2O.
2. a) 0,1034 g verbrauchen zur Neutralisation nach Kjeldahl 11,1 ccm $^n/_{10}$ Schwefelsäure entsprechend 15,03 Proz. N.
   b) 0,1396 g verbrauchen 15,0 ccm $^n/_{10}$ Schwefelsäure entsprechend 15,04 Proz. N.
3. a) 0,1028 g geben 0,02135 g $Mg_2P_2O_7$ entsprechend 5,8 Proz. P.
   b) 0,1211 g geben 0,02465 g $Mg_2P_2O_7$ entsprechend 5,68 Proz. P.
4. a) 0,1500 g ergeben 0,02905 g CuO entsprechend 15,49 Proz. Cu.
   b) 0,1222 g ergeben 0,02435 g CuO entsprechend 15,93 Proz. Cu.

II. 3,0 Nucleinsäure und 1 g Harnsäure mit überschüssiger normal Natronlauge in 250 ccm Wasser gelöst, mit Essigsäure angesäuert, nach 24 Stunden abfiltriert. Auf dem Filter bleiben 0,0727 g Harnsäure.

Das Filtrat wird in gleicher Weise wie bei Versuch I mit Kupferchlorid gefällt, der Niederschlag in Natriumacetat gelöst und abermals mit Kupferchlorid ausgefällt.

(Die vereinigten Filtrate von den Kupferniederschlägen durch SH_2 vom Kupfer befreit und eingeengt, ergeben noch reichlich Harnsäure).

Die Analyse der sorgfältig gewaschenen und im Exsiccator getrockneten Kupferverbindung ergibt:

1. 0,5068 g verlieren beim Erhitzen auf 105° C bis zur Gewichtskonstanz 0,0453 entsprechend 8,94 Proz. H_2O.
2. a) 0,1641 g verbrauchen zur Neutralisation nach Kjeldahl 17,2 ccm $^n/_{10}$ Schwefelsäure entsprechend 14,67 Proz. N.
   b) 0,2488 g verbrauchen 25,5 ccm $^n/_{10}$ Schwefelsäure entsprechend 14,35 Proz. N.
3. a) 0,2167 g ergeben 0,04423 g $Mg_2P_2O_7$ entsprechend 5,69 Proz. P.
   b) 0,2492 g ergeben 0,05313 g $Mg_2P_2O_7$ entsprechend 5,95 Proz. P.
4. a) 0,1696 g ergeben 0,03503 g CuO entsprechend 16,82 Proz. Cu.
   b) 0,1428 g ergeben 0,02963 g CuO entsprechend 16,59 Proz. Cu.

III. 3,0 g Nucleinsäure und 1,0 g Harnsäure werden in gleicher Weise behandelt. Jedoch wird der erhaltene Kupferniederschlag noch einmal mehr in Natriumacetatlösung gelöst und zum dritten Mal mit Kupferchlorid gefällt.

In diesem Niederschlag ergibt die Analyse:

1. 0,3070 g verlieren beim Erhitzen auf 105° C 0,0258 g entsprechend 8,4 Proz. H_2O.
2. a) 0,1087 g verbrauchen zur Neutralisation 12,1 ccm $^n/_{10}$ Schwefelsäure entsprechend 15,58 Proz. N.
   b) 0,1924 g verbrauchen 21,0 ccm $^n/_{10}$ Schwefelsäure entsprechend 15,28 Proz. N.
3. a) 0,1490 g ergeben 0,03165 g $Mg_2P_2O_7$ entsprechend 5,93 Proz. P.
   b) 0,1350 g ergeben 0,02895 g $Mg_2P_2O_7$ entsprechend 5,91 Proz. P.
4. a) 0,1348 g ergeben 0,02405 g CuO entsprechend 14,28 Proz. Cu.
   b) 0,1215 g ergeben 0,02135 g CuO entsprechend 14,06 Proz. Cu.

Stellen wir die Ergebnisse sämtlicher Analysen zusammen, so finden wir:

	I	II	III
N =	15,03	14,51	15,43
P =	5,74	5,82	5,92
Cu =	15,71	16,71	14,17
H_2O =	8,78	8,94	8,40

Auf die Kupfer- und wasserfreie Verbindung berechnet sich hieraus:

	I	II	III
N =	19,91	19,47	19,89
P =	7,60	7,81	7,63

Demnach haben alle drei Präparate einen geradezu auffallend übereinstimmenden Prozentgehalt an Stickstoff und Phosphor ergeben.

Versuchen wir hieraus zu ermitteln, ob die Nucleinsäure und

die Harnsäure in dieser Kupferverbindung in einem bestimmten mulekularen Verhältnisse enthalten sind, so ergeben sich gewisse Schwierigkeiten aus der Unsicherheit, die noch inbezug auf die Zusammensetzung der Nucleinsäure herrscht. Nach Schmiedeberg ist die empirische Formel der Nucleinsäure $C_{40}H_{56}N_{14}O_{26}P_4$; Steudel[1]) nimmt dagegen auf Grund der Beschaffenheit der Zersetzungsprodukte 15 Atome Stickstoff an und gibt der Nucleinsäure die Formel $C_{40}H_{55}N_{15}O_{26}P_4$.

Demnach berechnet sich der Stickstoff und Phosphorgehalt bei

	nach Schmiedeberg:	nach Steudel:
1 Molekül Nucleinsäure und 1 Molekül Harnsäure		
N =	17,50 Proz.	18,30 Proz.
P =	8,61 =	8,51 =
1 Molekül Nucleinsäure und 2 Moleküle Harnsäure		
N =	19,15 Proz.	19,85 Proz.
P =	7,71 =	7,64 =
1 Molekül Nucleinsäure und 3 Moleküle Harnsäure		
N =	20,50 Proz.	21,13 Proz.
P =	6,98 =	6,93 =

Vergleicht man unsere Zahlen mit den in dieser Tabelle enthaltenen, dann dürfte es wohl ziemlich sicher sein, daß 1 Molekül Nucleinsäure mit 2 Molekülen Harnsäure in Verbindung tritt.

	Berechnet:	Gefunden im Durchschnitt:
N =	19,85	19,72
P =	7,64	7,68

In Hinblick auf die Bedeutung, welche möglicherweise der Verbindung der Nucleinsäure mit Harnsäure im tierischen Organismus zukommen kann, war es von besonderem Interesse zu prüfen, wie sich diese Verbindung gegenüber den Eiweißsubstanzen verhält, d. h. ob der in saurer Lösung auftretende Niederschlag von Nucleinsäure mit Eiweiß, bei Gegenwart von Harnsäure auch diese letztere mit aufnimmt. Zu diesem Zwecke wurde folgender Versuch ausgeführt:

0,5 g Nucleinsäure und 0,15 g Harnsäure wurden, wie gewöhnlich, mit überschüssiger Natronlauge in Wasser gelöst, dann mit Essigsäure stark angesäuert und nach 14 Stunden filtriert. Das Filtrat wird in ziemlich starker Verdünnung mit einer Lösung von Hühnereiweiß so

1) Zeitschrift für physiol. Chemie Bd. XLIX, S. 408, 1906.

lange versetzt, als noch ein Niederschlag entsteht. Dieser Niederschlag wird wiederholt mit Wasser decantiert und gewaschen. In Wasser verteilt, löst er sich leicht auf Zusatz von etwas Ammoniak und fällt beim Ansäuern sofort wieder aus. Die ammoniakalische Lösung gibt keine Fällung mit Silbernitrat. Der gesamte Nucleinniederschlag wird nun in 100 ccm 2 Proz. Schwefelsäure verteilt und am Rückflußkühler 3 Stunden gekocht. Dann die Säure bis zur schwach sauren Reaktion mit Ammoniak abgestumpft und heiß filtriert. Das Filtrat gibt nach dem Erkalten mit ammoniakalischer Silberlösung einen reichlichen Niederschlag von Purinbasen. Doch läßt sich Harnsäure nicht nachweisen.

Das Filtrat von der Eiweißfällung wird bei schwach saurer Reaktion zur Entfernung des Eiweißüberschusses aufgekocht, dann filtriert und eingeengt. Es scheiden sich beim Einengen reichlich Kristalle von reiner Harnsäure aus.

Demnach war bei dem Ausfällen der Nucleinsäure durch Eiweiß die Harnsäure nicht mit in den Niederschlag gegangen, sondern sie hatte sich von der Nucleinsäure getrennt.

Diese Verdrängung der Harnsäure aus der Nucleinverbindung durch Eiweiß ist zunächst bemerkenswert, weil sie erklärt, daß beim Enteiweißen einer harnsäure- und nucleinsäurehaltigen Flüssigkeit, wie z. B. des Blutes, auch die Harnsäure, die an Nucleinsäure gebunden war, aus dem Filtrat dargestellt werden kann. Mit anderen Worten, der Umstand, daß man in dem durch Kochen und Ansäuern enteiweißten Aderlaßblute die Harnsäure nachweisen kann, spricht noch nicht dagegen, daß diese Harnsäure in zirkulierendem Blute an Nucleinsäure gebunden war.

Es wäre denkbar, daß auch im lebenden Organismus eine durch Änderung der chemischen Reaktion oder durch sonstige Verhältnisse bedingte Bindung der Nucleinsäure an Eiweiß und die Entstehung unlöslicher Nucleine die Loslösung der an der Nucleinsäure verankerten Harnsäure an bestimmten Orten vermittelt und so auf ihren Übergang in den Harn, ihre weitere Oxydation oder ihre Ablagerung im Organismus bestimmend einwirkt. Doch bleibt dieses einstweilen nur eine Hypothese.

Es ergab sich nun die Frage, ob — unter Berücksichtigung der hier ermittelten, von Bendix und Schittenhelm außer acht gelassenen, Bindungsverhältnisse und quantitativen Beziehungen der Nucleinsäure und Harnsäure — nicht doch vielleicht durch Einverleibung von Harnsäure mit Nucleinsäure experimentell der Nachweis geführt werden könnte, daß die Bindung der Harnsäure an Nucleinsäure ihr Schicksal im Organismus zu beein-

flussen vermag. Der Entscheidung dieser Frage stellt sich die Schwierigkeit entgegen, daß einmal von der eingeführten Harnsäure nur ein Bruchteil im Harn wieder erscheint, der größte Teil aber im Organismus zersetzt wird, und daß andererseits auch aus der eingeführten Nucleinsäure wechselnde Mengen von Harnsäure gebildet und im Harn ausgeschieden werden können. Immerhin war es von Interesse zu prüfen, ob nach intravenöser Einfuhr einer gewissen Menge an Nucleinsäure gebundener Harnsäure das im Harne ausgeschiedene Harnsäurequantum sich wesentlich von der Summe der nach Injektion der gleichen Mengen von Nucleinsäure allein und Harnsäure allein ausgeschiedenen Quantitäten unterschied.

Wir stellten zunächst einige Versuche an Kaninchen an, bei denen die Verhältnisse sich insofern nicht ungünstig gestalteten, als nach der intravenösen Injektion von Nucleinsäure allein nur so geringe Mengen von Harnsäure im Harne auftraten, daß sie das Urteil über die aus der eingeführten Harnsäure stammenden Mengen nicht wesentlich beeinträchtigten. Andererseits aber erwiesen sich die Tiere leider insofern wenig brauchbar für die Versuche, als sie nach der intravenösen Injektion unserer Nucleinsäure meist bald schwer erkrankten und zugrunde gingen.[1] Doch war das Ergebniß der Versuche immerhin bemerkenswert:

Zur Injektion wurden die abgewogenen Mengen der Nucleinsäure mit der Harnsäure, wie gewöhnlich, in überschüssiger Natronlauge gelöst, dann mit Essigsäure bis zur schwachen Alkalescenz neutralisiert. Die Nucleinsäure allein wurde in schwach alkalischer Lösung mit Natron, die Harnsäure allein in etwas stärker alkalischer Lösung injiziert. Die auf Körpertemperatur erwärmte Flüssigkeit strömte in einer Menge von ca. 40 ccm aus einer Bürette langsam in die v. jugularis ein.

Die Harnsäure wurde im Harn nach Wörner bestimmt.[2])

Versuchsreihe I.

a) einem Kaninchen von 2,25 kg Körpergewicht werden an mehreren aufeinander folgenden Tagen täglich 0,08, also in zwei Tagen 0,16 g Harnsäure injiziert. Das Tier verträgt die Injektionen gut, und bleibt munter.

---

1) Wenn die Versuchstiere von Bendix und Schittenhelm, wie es scheint, viel größere Mengen von intravenös injiziertem nucleinsauren Natron vertragen haben, so kann dies dadurch erklärt werden, daß, wie dieselben Autoren gefunden haben (Zeitschrift für experimentelle Pathologie und Therapie Bd. II) Nucleinsäuren verschiedenen Ursprungs sich in sehr verschiedenem Grade giftig erweisen können.

2) Die geringen Mengen von Nukleinsäure, die in den Harn übergingen, störten hier die Ausfällung der Harnsäure nicht, weil der Harn nach der intravenösen Nukleinsäureinjektion stets eiweißhaltig war, und beim Enteiweißen durch Kochen und Ansäuern mit Essigsäure auch die Nukleinsäure entfernt wurde.

Es entleert in je 48 Stunden:

am 21. und 22. Februar: 120 ccm Harn mit 0,0213 Harnsäure,
= 23. = 24. = : 130 = = = 0,0244 =
= 1. = 2. März : 132 = = = 0,0172 =

b) Einem Kaninchen von 2,41 kg Körpergewicht werden am 28. und 29. Februar 1907 je 0,5 g, also im Ganzen 1,0 Nucleinsäure als Natronsalz intravenös injiziert. Das Tier erscheint nach jeder Injektion recht krank und stirbt 9 Stunden nach der zweiten Injektion.

In 33 Stunden entleerte dieses Tier:

150 ccm Harn mit 0,0020 Harnsäure.

Bei der Sektion zeigen beide Nieren das Bild einer akuten hämorrhagischen Nephritis; sie sind stark geschwollen, enthalten viele punktförmige Hämorrhagien an der Oberfläche und auf der Schnittfläche; das mikroskopische Bild zeigt die meisten Harnkanälchen mit Blut und Cylindern erfüllt, die Epithelzellen gequollen. Ablagerungen von Harnsäurekristallen sind nirgends nachweisbar.

c) Einem Kaninchen von 2,3 kg Gewicht werden am 14. und 15. Februar 1907 je 0,5 Nucleinsäure mit 0,08 Harnsäure injiziert, also an den beiden Tagen im ganzen 0,16 Harnsäure mit 1,0 Nucleinsäure injiziert.

Es entleert in 48 Stunden:

240 ccm Harn mit 0,1063 Harnsäure.

Am 16. Februar wird eine dritte Injektion versucht. Das Tier kollabiert aber dabei und stirbt nach einer Stunde, nachdem es noch 10 ccm blutigen Harn entleert. Der Sektionsbefund ist der gleiche wie bei dem vorigen Tiere. Namentlich sind auch hier in den Nieren nur nephritische Veränderungen, aber keine Harnsäureablagerungen nachweisbar.

Versuchsreihe II.

Um die Gefahren der Nucleinsäureinjektion zu verringern, wurden bei den folgenden Versuchen die Injektionen zweimal täglich, um 9 und um 6 Uhr ausgeführt, und jedesmal nur die Hälfte der Dosis injiziert.

a) Kaninchen von 2,25 kg. Erhält im Laufe von 2 Tagen viermal je 0,04 Harnsäure. In 48 Stunden: 180 ccm Harn mit 0,0466 Harnsäure. Das Tier bleibt munter.

b) Kaninchen von 2,8 kg. Erhält im Laufe von 2 Tagen viermal je 0,25 Nucleinsäure. Nach jeder Injektion wird das Tier matter und stirbt 3 Stunden nach der letzten Injektion. In 31 Stunden: 168 ccm Harn mit 0,0046 auf 48 Stunden berechnet 0,0071 Harnsäure.

c) Kaninchen von 3,35 kg. Erhält im Laufe von 2 Tagen 3 Injektionen von je 0,25 Nucleinsäure mit 0,04 Harnsäure. Auch dieses Tier wird nach jeder Injektion schwerer krank und stirbt 2 Stunden nach einer 4. Einspritzung, ohne nach dieser noch Harn entleert zu haben. In 31 Stunden: 260 ccm mit 0,0393 (auf 48 Stunden berechnet 0,0641) Harnsäure.

Es wurde nun noch eine Versuchsreihe mit einmaliger Injektion einer etwas größeren Dosis ausgeführt:

Versuchsreihe III.

a) Kaninchen von 2,2 kg. Erhält 0,858 Nucleinsäure. In den nächsten 48 Stunden: 200 ccm Harn mit 0,0055 Harnsäure.

b) Kaninchen von 2,5 kg. Erhält 0,891 Nucleinsäure mit 0,143 Harnsäure. In den folgenden 48 Stunden: 170 ccm Harn mit 0,0811 Harnsäure.

Bei der folgenden Versuchsreihe wurde eine intraperitonale Einverleibung der Harnsäure und Nucleinsäure gewählt:

Versuchsserie IV.

a) Einem Kaninchen werden an zwei aufeinanderfolgenden Tagen je 0,25 Harnsäure intraperitoneal injiziert. In 48 Stunden: 302 ccm Harn mit 0,0281 Harnsäure.

b) Einem 2,73 schweren Kaninchen werden an zwei aufeinanderfolgenden Tagen je 1,0 Nucleinsäure mit je 0,25 Harnsäure intraperitoneal injiziert. In 48 Stunden: 120 ccm mit 0,1596 Harnsäure. Am dritten Tage stirbt das Tier. Der Harn enthält Eiweiß, rote und weiße Blutkörperchen, alle Arten von Cylindern; gelatiniert bei Zimmertemperatur; Pentosereaktion deutlich, Sektionsbefund wie bei den früheren Versuchen. Keine Harnsäureablagerungen.

Mit Ausnahme des Versuchs IIc, in welchem die Differenz nur gering war, wurden demnach nach der Injektion von Harnsäure mit Nucleinsäure stets sehr viel größere Harnsäuremengen im Harne ausgeschieden, als bei der getrennten Injektion beider Substanzen zusammengenommen. Gerade bei diesem Versuche IIc war aber das Tier durch die Injektion besonders schwer affiziert; auch war die eingeführte Harnsäuremenge kleiner, da die 4. Injektion gar nicht mehr zur Wirkung kommen konnte.

Weil die Kaninchen die Nucleinsäureinjektion so schlecht vertrugen, führte ich noch einige Versuche an Hunden aus. Der erste Versuch ergab ein zweifelhaftes Resultat:

Versuch V.

Hund von 6,9 kg Gewicht; wird nur mit Brot und Milch ernährt. Am 9. Mai intravenöse Injektion von 0,3 Harnsäure. In den nächsten 24 Stunden: 350 ccm Harn mit 0,0156 Harnsäure. Am 13. Mai intravenöse Injektion 2,0 Nucleinsäure. In den nächsten 24 Stunden: 250 ccm Harn mit 0,0339 Harnsäure. Am 27. Mai Injektion von 0,3 Harnsäure mit 2,0 Nucleinsäure. In den nächsten 24 Stunden: 210 ccm Harn mit 0,0479 Harnsäure. Der Hund bleibt gesund, der Harn eiweißfrei.

In diesem Versuche wurde nach der gleichzeitigen Injektion der Nucleinsäure und Harnsäure ungefähr so viel Harnsäure ausgeschieden, wie nach den getrennten Injektionen der gleichen Mengen

zusammengenommen. Doch war in diesem Versuch nicht bestimmt worden, wie viel von der Harnsäure für den spontanen Harnsäuregehalt des Harnes in Abzug zu bringen war. War diese Menge erheblich, so konnten sich doch gewisse Differenzen ergeben haben.

Bei den folgenden beiden Versuchen wurde daher an einer Reihe von Tagen auch die Harnsäuremenge bestimmt, die ohne irgend eine Injektion von Harnsäure oder Nucleinsäure ausgeschieden wurde. Außerdem aber wurde bei diesen Versuchen ein besonderes Augenmerk auf das Allantoin gerichtet, welches nach den Untersuchungen von Salkowski[1]), Minkowski[2]), R. Cohn[3]) und Mendel[4]) als ein weiteres Umwandlungsprodukt der Harnsäure bei Hunden sehr wesentlich in Betracht kommt. Außerdem wurde auch noch zur Kontrolle des Nucleinumsatzes der Phosphorsäuregehalt im Harne bestimmt.

Das Allantoin wurde nach Loewy[5]) aus dem Stickstoffgehalt des Silberniederschlags bestimmt, die Harnsäure nach Ludwig-Salkowski, die Phosphorsäure mit Uran titriert.

Ich gebe die Resultate dieser Versuche in Tabellenform wieder:

Versuch VI.

13,48 kg schwerer Hund, nur mit Brot und Milch ernährt.

Tabelle I.

Datum	Injiziert	Harnmenge ccm	Harnsäure g	Allantoin g	Phosphorsäure g
17. VI.	0	293[6])	0,04254[6])	mißlungen	0,9187[6])
18. „	0	293[6])	0,04254[6])	„	0,9187[6])
19 „	Nucleinsäure 4,0 Harnsäure 1,0	420	0,3186	0,3417	1,8253
20. „	0	188[6])	0,03312[6])	0,07509[6])	0,6923[6])
21. „	0	188[6])	0,03312[6])	0,07509[6])	0,6923[6])
22. „	Nucleinsäure 4,0	320	0.04213	0,2882	1,3722
23. „	0	165[6])	0,02904[6])	0,0247[6])	0,5379[6])
24. „	0	165[6])	0,02904[6])	0,0247[6])	0,5379[6])
25. „	Harnsäure 1,0	375 (in 24 Std.)	0,0221	0.3139	0,3578

Hund nach 1 Woche gestorben.

1) Salkowski, Bericht der Deutsch. chem. Gesellschaft Bd. IX und XI 1876—1878.

2) Minkowski, Zur Physiologie u. Pathologie der Harnsäure. Dieses Archiv Bd. 41 S. 375, 1898.

3) Cohn, Zeitschrift f. physiol. Chemie, Bd. XXV, S. 507, 1898.

4) Mendel, Deutsch. mediz. Wochenschrift 1904, Nr. 32, S. 1727.

5) Loewy, Dieses Archiv Bd. 44, S. 19.

6) Aus der 48 stündigen Harnmenge berechnet.

Versuch VII.

4,405 kg schwerer Hund, seit dem 7. Juli nur mit Brot una ilch ernährt.

Tabelle II.

Datum	Injiziert (in 80 ccm gelöst) g	Urinmenge ccm	Sp. G.	Harnsäure g	Allantoin g	Phosphorsäure g
9. VII.	0	141 [1]	1,014	0,0046 [1]	0,0014 [1]	0,1147 [1]
10. „	0	141 [1]		0,0046 [1]	0,0014 [1]	0,1147 [1]
11. „	Harnsäure 0,5	414	1,012	0,0381	0,1916	0,3368
12. „	0	150	1,021	0,0104		0,155
19. „	Nucleinsäure 2,0 Harnsäure 0,5	330	1,012	0,0914	0,232	0,4839
20. „	0	180	1,029	0,0116		0,198
21. „	Nucleinsäure 2,0	252	1,066	0,0286	0,1274	0,6393
23. „	0	124	1,018	0,0094		0,1705

In diesen beiden Versuchen zeigt es sich sehr deutlich, daß nach der gleichzeitigen Injektion der Nucleinsäure und Harnsäure erheblich mehr Harnsäure zur Ausscheidung gelangt, als die Summe der nach der Nucleinsäurezufuhr und der Harnsäurezufuhr ausgeschiedenen Menge beträgt. Bemerkenswert ist, daß die Allantoinausscheidung ein der Harnsäure gerade entgegengesetztes Verhalten erkennen läßt. Nach der Injektion von Harnsäure allein ist überhaupt nur eine erhebliche Steigerung der Allantoinausscheidung bei fehlender oder geringer Steigerung der Harnsäureausfuhr zu erkennen. Auch nach der Zufuhr der Nucleinsäure allein findet sich nur eine beträchtliche Allantoinausscheidung neben einer geringfügigen Steigerung des Harnsäurezusatzes. Dagegen sehen wir bei der gleichzeitigen Zufuhr der verbundenen Substanzen, besonders im Versuch VI, eine sehr große und fast den Allantoinwert erreichende Harnsäuremenge im Harn auftreten.

Stellen wir in diesem Versuche die Summe der am 22. und 25. ausgeschiedenen Werte von Harnsäure und Allantoin den am 19. ausgeschiedenen Mengen gegenüber, so ergibt sich sogar auffallenderweise, daß am 19. die Mehrausscheidung an Harnsäure 0,3186 — (0,0421 + 0,0221) = 0,2544 ziemlich genau denselben Wert zeigt wi die Minderausscheidung an Allantoin 0,3139 + 0,2882 — 0,3417 = 0,2604, entsprechend 0,2768 Harnsäure. Es hat demnach den A schein, als ob die erhöhte Harnsäureausscheidung im Harn ger dadurch zustande gekommen wäre, daß durch die Bindung Nucleinsäure die Oxydation der Harnsäure erschw

1) Aus der 48 stündigen Harnmenge berechnet.

wurde, so daß ein größerer Teil der im Organismus zirkulierenden Harnsäure vor der Umwandlung in Allantoin bewahrt geblieben ist. Selbstverständlich kann diese Übereinstimmung aber auch eine zufällige sein, denn es kommen hier offenbar sehr komplizierte Verhältnisse zur Geltung.

Wir sind auch weit davon entfernt, den Wert dieser Versuche überschätzen zu wollen, und etwa aus den gemachten Beobachtungen gleich Schlüsse auf die Bedeutung der Nucleinsäureverbindung für das physiologische und pathologische Verhalten der Harnsäure im Organismus des Menschen zu ziehen. Nur das eine geht wohl aus diesen Versuchen schon hervor, daß die Beobachtungen von Bendix und Schittenhelm nicht geeignet sind, die Hypothese von Minkowski zu widerlegen, daß die Paarung mit Nucleinsäure auf das Schicksal der Harnsäure im Organismus von Einfluß ist.

Auf die Annahme einer besonderen leicht lösbaren Bindung der Harnsäure im Blute werden wir durch mancherlei Tatsachen hingedrängt, namentlich auch durch die Schwierigkeiten, das Verhalten der Harnsäure bei der Gicht zu erklären. Brugsch und Schittenhelm[1]) haben vor kurzem eine neue Theorie der Gicht zu begründen versucht, die im wesentlichen darauf hinauskommt, daß es sich bei dieser Krankheit um eine spezifische Störung des Nucleinstoffwechsels handelt, welche einmal in einer verlangsamten und verringerten Harnsäurebildung und dann in einer verzögerten Harnsäurezerstörung zum Ausdruck kommt. Dabei haben diese Autoren bestätigen können, daß im Blute der Gichtischen selbst bei purinfreier Kost stets Harnsäure nachweisbar ist, während dieses bei Gesunden nicht der Fall ist. Sie beziehen diese Anhäufung von Harnsäure aber nur auf eine verminderte Urikolyse infolge einer funktionellen fermentativen Minderleistung. Geben wir aber auch zu, daß eine solche verminderte Urikolyse zur Anhäufung der Harnsäure im Blute führen kann, so entsteht doch immer noch die Frage, warum das mit Harnsäure überladene Blut seinen Harnsäureüberschuß nicht durch den Harn abgibt? Die Harnsäureausscheidung ist sogar, wie auch Brugsch und Schittenhelm bestätigen, bei der Gicht vermindert und verzögert. Wenn dieses, wie die genannten Autoren ausdrücklich zu beweisen suchen, nicht an einer Störung der harnsäureausscheidenden Funktion der Nieren liegt, dann bleibt

---

1) Verhandlungen des XXIV. Kongresses für innere Medizin zu Wiesbaden 1907, S. 244, siehe auch Therapie der Gegenwart 1907, S. 338.

doch nur die Erklärung übrig, daß die Harnsäure irgendwie im Blute festgehalten wird. Eine solche Annahme würde nicht mit der Minkowskischen Hypothese in Widerspruch stehen. Denn Minkowski hat, indem er auf die Bedeutung der Nucleinsäure für das Schicksal der Harnsäure im Organismus hinwies, es wohlbewußt vermieden, irgendwelche bestimmteren Angaben über das Verhalten der Nucleinsäure bei der Gicht zu machen, sondern er hat nur die Vermutung geäußert, daß die Bindungsweise der Harnsäure eine andere als in der Norm sein könnte. Man könnte, um die Vorstellungen von Brugsch und Schittenhelm mit denen von Minkowski in Einklang zu bringen, die Störung bei der Gicht vielleicht gerade darin erkennen, daß die Lösung jener Bindung nicht in normaler Weise oder nicht an normaler Stelle vonstatten geht und daß dadurch die Oxydation der Harnsäure erschwert wird.

Irgendwelche direkten Aufschlüsse über die Rolle, die die Bindung der Harnsäure an Nucleinsäure tatsächlich unter normalen und pathologischen Verhältnissen im Organismus spielt, stehen vorläufig noch aus, doch möchte ich zum Schlusse unter den Angaben, die zugunsten der Annahme einer organischsn Bindung der Harnsäure im Blute sprechen, außer der bereits oben erwähnten Beobachtung von Bloch (S. 77) auch noch auf die Untersuchungen von Taylor[1]) hinweisen, welcher fand, daß die Harnsäure in dem mit CO_2 gesättigten Blute in einem Verhältnis von 1 : 1000 löslich ist, und daß die Konzentration der H-Ionen durch Sättigung des Blutes mit Harnsäure nicht verändert wird, und daraus schließt, daß die Harnsäure im Blute in einer nicht dissoziierten organischen Verbindung enthalten sein muß. Auch diese Angaben bedürfen aber noch einer Bestätigung.

---

1) Taylor, A. E. on the solubility of uric acid in the blood serum. The Journal of Biolog. Chemistry I, S. 177, 1906, siehe Zentralblatt für Physiologie 1906, Nr. 12, S. 405.

IV.

Aus der medizinischen Klinik in Greifswald. Direktor Prof. Dr. O. Minkowski.

Physiologisches zur Kreatininfrage.

Von

Dr. S. Weber, Privatdozent.

Bei der Untersuchung des Harnes eines Tetanuskranken [1]) hatten wir gefunden, daß die Kreatininausscheidung — nach der Methode von Neubauer-Salkowski, welche zu kleine Werte gibt, bestimmt — auffallend groß war, im Verhältnis zu der allerdings abnorm geringen Stickstoffmenge, daß also das Kreatinin eine weitgehende Unabhängigkeit von der Gesamtstickstoffausfuhr hatte. Diese von Folin für den normalen Menschen gleichfalls bewiesene Erscheinung gab uns Veranlassung, dem Stoffwechsel des Kreatinins in normalem Geschehen, bei der Muskeltätigkeit und in pathologischen Zuständen eingehender nachzugehen.

I. Zur Methodik der Kreatininbestimmung.

Zu diesen Untersuchungen bedienten wir uns der Folinschen [2]) Methode der Kreatininbestimmung, deren Veröffentlichung das bis dahin durch die unzulängliche Methodik sehr behinderte Studium der Rolle des Kreatinins im Stoffwechsel sehr lebhaft angeregt und bereits eine Reihe wichtiger Abhandlungen gezeitigt hat.

Folins Angaben über Exaktheit und Fehlergrenzen seiner Methode sind von Hoogenhuyze und Verploegh [3]), Baur und Barschall [4]), v. Klercker [5]), Gottlieb und Stangassinger [6]), Dorner [7]) nachgeprüft und im Wesentlichen bestätigt worden.

1) Centralbl. f. Physiol. u. Pathol. d. Stoffwechsels 1906, Nr. 18.
2) Ztschr. f. Physiol. Chem. 41, 223—242, 1904.
3) Ztschr. f. Physiol. Chem. 46, 415—471, 1905.
4) Arbeit. aus d. kaiserl. Gesundheitsamte 24, 552—575, 1906.
5) Biochem. Zeitschr. 3, 45—88, 1906.
6) Ztschr. f. Physiol. Chem. 52, 1—41, 1907.
7) Ztschr. f. Physiol. Chem. 52, 227—278, 1907.

Die Folinsche Methode beruht auf dem colorimetrischen V
gleiche der Intensität der Jafféschen Kreatininreaktion mit ei
empirisch bestimmten Kaliumbichromatlösung in einem geeigne
Colorimeter. Folin benutzte den Dubosqschen Apparat, Hooge
huyze und Verploegh haben sich ein Instrument nach eigen
Angaben von Kagenaar-Utrecht bauen lassen, das auch Dorn
benutzte, Gottlieb und Stangassinger arbeiteten mit ein
ähnlichen Apparate von Runne-Heidelberg. Alle diese Colorime
gestatten, nach 0,1 mm ihrer Skala abzulesen. Es ist nun vor all
die Frage:

Ändert sich der Farbenton der zu untersuchenden Flüssigkeit n
wechselnder Schichtdicke so stark, daß er — hinreichende Übu
vorausgesetzt, — mit Sicherheit bis auf wenige Zehntelmillimeter g
nau alle Mal auf die Standardlösung einzustellen ist?

Folin selbst äußert sich hierüber nicht. Hoogenhuyze u
Verploegh geben an, höchstens um 0,2 mm differierende Ablesu
gen gemacht zu haben. Gottlieb und Stangassinger haben b
kreatininreichen Lösungen, die in einer Schichtdicke von ca. 4,2 m
im Farbenton der 8 mm hohen Chromatlösung gleichgefärbt ware
selten größere Ablesungsdifferenzen als 0,1 mm beobachtet, bei st
keren Verdünnungen, blasser gefärbten Lösungen (z. B. 20 mm Unt
suchungslösung gleich 8 mm Chromatlösung) aber 0,5 mm Differe
abgelesen. (Nach Folin[1]) ist übrigens eine Ablesung von 20 m
Kreatininlösung gleich 8 mm Chromat unbrauchbar, weil der Fehl
aus mannigfachen Gründen nicht mehr abschätzbar ist.) v. Klercker
desgleichen Baur und Barschall haben höchstens 0,3 mm Dif
renz gehabt. Dorner[3]) gibt an, daß seine Ablesungen selten n
mehr als 0,3—0,5 mm variirt haben. Unsere eigenen Beobachtu
gen bei der Anwendung der Folinschen Methode über die Schä
der Ablesungen mit dem Colorimeter ergaben:

Je stärker konzentriert die Untersuchungslösung, um so schär
läßt sie sich mit der Chromatlösung vergleichen, um so geringer w
den die Differenzen der einzelnen Ablesungen des einzelnen Unt
suchers und auch beider Beobachter untereinander. Ist die Schic
dicke nur 4,5—5 mm, so sind die Ablesungsdifferenzen höchste
0,2 mm. Bei 8 mm kommen schon 0,3 mm Differenzen desselb
Beobachters und noch häufiger solche oder noch größere Differenz
zwischen verschiedenen Untersuchern vor. Flüssigkeiten, die e

1) l. c., p. 226. 2) l. c. p. 226.
3) l. c. p. 51.

oberhalb 11 mm Schichtdicke den Farbenton der Stardardlösung gaben, zu untersuchen, mußten wir wegen zu großer Differenzen (0,7 mm und mehr) verzichten. Wir haben demnach, Hoogenhuyze und Verploegh folgend, nur Lösungen verwendet, die bei 4,5—11 mm Dicke der Chromatlösung 8 mm entsprachen.

Im Durchschnitt können wir 0,3 mm als in den Bereich der unvermeidlichen Beobachtungsfehler fallend ansehen. Das entspricht durchschnittlich einen Analysenfehler von 4 Proz.

Sämtliche Bestimmungen wurden von beiden Beobachtern[1]) gemeinsam gemacht, so daß jeder vier oder mehr Ablesungen notierte. Das Mittel derartiger acht Notierungen mochte wohl ziemlich exakt das Richtige treffen. Als Lichtquelle benutzten wir Auerglühlicht oder diffuses Tageslicht, welche beide übereinstimmende Ablesungen bei vergleichender Untersuchung ergaben.

Nicht unerwähnt bleibe, daß das Auge durch die Anstrengung des Farbenvergleiches ziemlich rasch ermüdet. Die Differenzen bei den Ablesungen werden beim längeren Arbeiten, wenn also von einem Beobachter etwa 40 Ablesungen gemacht sind, deutlich größer.

Wir haben sowohl mit einem möglichst genau nach der Beschreibung des Apparates von Hoogenhuyze und Verploegh gearbeiteten Colorimeter (Mechaniker Wittig-Greifswald) wie mit dem Dubosqschen Instrumente gearbeitet. Was das französische Modell vor dem holländischen an Bequemlichkeit der Handhabung und äußerer Eleganz voraus hat, scheint uns indessen durch eine unverkennbar geringere Solidität der Ausführung wettgemacht.

Auf die Farbenreaktion des Kreatinins mit natron-alkalischer Pikrinsäure üben außer den Acidosekörpern und — selbstverständlich den Alkaptonsäuren — andere im Harn vorkommende Substanzen[2]) und normale Farbstoffe keinen Einfluß aus.

Davon haben sich außer dem Entdecker der Reaktion Jaffé[3]), Folin, v. Klercker (Beobachtungen über den Einfluß des Acetons und der Dextrose) und andere Nachuntersucher überzeugt.

Ganz andere Verhältnisse aber können sich einstellen, wenn es sich darum handelt, Kreatinin in sehr stark verdünnter Lösung zu bestimmen. Zum Nachweise sehr kleiner Mengen von Kreatinin geht man so vor, daß die zu untersuchende Lösung statt auf 500 nur auf

---

1) Dr. Forschbach und ich unterstützten uns gegenseitig bei dieser wie bei der folgenden Arbeit.

2) Auch nicht der Traubenzucker in der Reaktionszeit von 10—15 Minuten.

3) Ztschr. f. Physiol. Chem. 10, 399, 1886.

z. B. 100 ccm gebracht und dann mit entsprechend geringeren Mengen Pikrinsäure (3 ccm) und Natronlauge (1 ccm) die Reaktion angestellt wird. Aber man muß hierzu die sehr verdünnten Lösungen stark einengen und konzentriert dabei andere, die Reaktion störende, färbende oder reduzierende Substanzen zugleich. Der hierdurch etwa gemachte Fehler ist unberechenbar.

Speziell die Eigenfarbe eines stark eingedampften Organextraktes oder Harns usw. kann so stark sein, daß sie bei einer Verdünnung auf nur 50 oder 100 ccm nicht vernachlässigt werden darf. Als Beleg hierfür führen wir eine Erfahrung von uns als Beispiel an:

36,52 g Hundemuskulatur, mit 2 Proz. HCl aufgeschlossen, die Lösung auf 300 ccm eingedampft und auf 600 ccm im Kolben aufgefüllt. Hellstrohgelbe Lösung, von der 100 ccm zur colorimetrischen Bestimmung verwendet werden. Abgelesen 7,3 mm, entsprechend 0,01096 g Kreatinin. Berechnet **0,1801 Proz.** Kreatinin.

49,55 g desselben Muskels gleichzeitig genau wie der vorige verarbeitet, jedoch die Lösung aus Versehen zur Syrupskonsistenz eingedampft. Nach dem Auffüllen auf 600 ccm ist diese Lösung tief rötlichbraun, klar. 25 ccm davon werden zur kolorimetrischen Bestimmung im Kolben auf 300 ccm aufgefüllt. Abgelesen 8,4 mm entspr. 0,009524 gr Kreatinin. Berechnet **0,2768 Proz.** Kreatinin. Dies Beispiel lehrt, wie vorsichtig man bei dem Einengen vorgehen muß um nicht schweren Täuschungen zu unterliegen.

Noch erheblicher ändert sich die Farbe nach unseren Erfahrungen, wenn z. B. Urin mit Salzsäure erhitzt wird. Diese Dunkelfärbung scheint uns besonders bei der Bestimmung des Kreatins neben Kreatinin bedeutsam.

Um Kreatin neben Kreatinin zu bestimmen, wandelte Folin durch 3stündiges Erhitzen des Urins mit dem halben Volumnen normal-Salzsäure auf dem Wasserbade das Kreatin in Kreatinin um und bestimmte das so erhaltene Gesamtkreatinin colorimetrisch. v. Klercker verfuhr ebenso. Jaffé[1]) fand dreistündiges Stehen der Lösung mit 2—2,5 Proz. Salzsäuregehalt auf dem kochenden Wasserbade mit folgendem Eindampfen zur Trockne als das Verfahren, welches Kreatin noch am vollständigsten (zu 94,3 Proz.) in Kreatinin überführt. Gottlieb und Stangassinger[2]) fanden 4,56 Proz. Salzsäure als die Säurekonzentration bei der die Umwandlung von Kreatin in Kreatinin nach 2stündigem Erhitzen auf 99—100° genau quan-

1) Ztschr. f. Physiol Chem. 48, 430—468, 1906.
2) l. c. p. 11 f.

titativ wird. Diese Feststellungen beziehen sich auf reine Kreatinlösungen. Dorner[1]) erwärmte Kreatinlösung mit dem doppelten Volumen normaler Salzsäure 3—4 Stunden lang auf dem Wasserbade und fand 85—100 Proz. der Substanz als Kreatinin wieder, aber nur wenn die Lösungen 0,1 Proz. Kreatin enthielten. Konzentriertere Lösungen werden unvollständiger invertiert. Wie schon Jaffé[2]) bemerkte, fand auch Dorner die Invertierung von Kreatin, das in Kaninchenharn gelöst war erheblich erschwert. Durch das erwähnte Verfahren fand Dorner 72,5—100 Proz. invertiert, Resultate, die sicher unbefriedigend sind. Bauer und Barschall[3]) berichten, daß sie zu Fleischextraktlösungen zugesetztes Kreatin richtig wiederfanden (keine Zahlenbelege).

Es ist leicht verständlich, daß die Überführung des Kreatins in Kreatinin durch Salzsäure verschieden schnell und vollständig vor sich geht, je nachdem man mit rein wässerigen Lösungen arbeitet, in denen die Säure nur auf das Kreatin einwirken kann oder ob man in so komplexen Gemischen wie Harn oder Organextrakten die Reaktion vornimmt. Für letztere muß erst die Säurekonzentration besonders ausgeprobt werden. Bauer und Barschall verfuhren für Fleischextrakte so, daß sie 10 g abgewogene Substanz in etwa drittelnormaler Salzsäure zu 100 ccm lösten und 4 Stunden auf dem Wasserbade erwärmten. So fanden sie 1,25 Proz. Kreatin in Liebigs Fleischextrakt. Gottlieb und Stangassinger dampften ihre Organextrakte (nach dem Enteiweißen) ein, brachten sie auf 100 ccm mit einem Salzsäuregehalt von 2,2 Proz., erhitzen dann 3 Stunden auf dem kochenden Wasserbade und dampfen dann zur Trockne ein. Bei Verwendung einer Salzsäurekonzentration von 4,56 Proz. in der gleichen Weise, erhielten die Autoren niedrigere Werte.

Wir haben in Lösungen von Liebigs Fleischextrakt, aus verschiedenen Büchsen, Kreatin neben Kreatinin zu bestimmen versucht, indem wir verschiedene Säurekonzentrationen einwirken ließen und die gefundenen Werte verglichen.

Wir geben in der Tabelle I die so gewonnenen Resultate.

Ausführung der Bestimmungen: Z. B. Probe 1. In einer 0,6435 Proz. Lösung des Fleischextraktes wurde zunächst mit 50 ccm das praeformierte Kreatinin bestimmt. 5 weitere Proben à 100 ccm

1) l. c. p. 229.

2) Ztschr. f. Physiol. Chem. 48, 436.

3) l. c. p. 562 und 565.

mit 2,00, 3,00 usw. Proz. Salzsäuregehalt in 200 ccm, 3 Stunden auf dem kochenden Wasserbade erhitzt, nach Abkühlen im Meßkolben auf 250 ccm gebracht, davon 100 bezw. 50 ccm zur colorimetrischen Bestimmung verwendet.

Probe 8 entstammt der gleichen Lösung wie 7. In 8 wurde nach Gottlieb erst 3 Stunden in 3 Proz. Lösung erhitzt, dann mit viel Wasser in Glasschale gespült, zur Trockne gedampft[1]) und der Rückstand auf 250 ccm gebracht, davon 100 zur colorimetrischen Bestimmung verwendet.

Tabelle I.

Probe	Praeformiertes Kreatinin	Gesamtkreatinin % nach Behandeln mit Salzsäure von 1%	2%	3%	4%	5%	6%	10%	Kreatin[2]) %
I.	6,124%		6,476	7,973	7,872	6,476		6,098	2,441
II.	5,042			6,241					1,583
III.	4,645		5,310	(4,645)	5,419				1,022
IV.	4,467			4,744	4,424	3,863			0,366
V.	4,789	5,136	(4,686)	5,269					0,634
VI.	4,989	5,379		5,486		4,424			0,656
VII.	4,326			5,302					1,288
VIII.				4,965					0,844
IX.[3])	3,858		(3,575)	4,674	3,284	2,949	3,038		1,077
X.[4])	3,0								1,250

Die Menge des präformierten Kreatinins schwankt in den einzelnen Proben, die verschiedenen Büchsen entnommen sind, sehr erheblich. Ebenso wechselnd ist der Kreatingehalt.

Hier interessiert uns am meisten das Optimum der Säurekonzentration. Es liegt bei 3 Proz. in 7 Bestimmungen. Bei 4,0 Prozent tritt im Versuch 4 und 9 bereits eine Zerstörung ein. In Probe I, die den höchsten Kreatin- und Kreatiningehalt hat, ist keine Zersetzung von Kreatinin eingetreten. Nicht übergangen seien die (in der Tabelle eingeklammerten) ganz aus der Reihe fallenden Zahlen in Versuch 3, 5, 9. Da ein technischer oder rechnerischer Fehler ausgeschlossen ist, bleiben sie unverständlich.

Hingewiesen sei auch auf die Parallelbestimmungen VII und VIII. Der nach der Vorschrift von Gottlieb und Stangassinger (l. c. p. 13) angestellte Versuch ergab einen niedrigeren Gesamtkreatininwert als das einfache 3stündige Erhitzen mit 3proz. Salzsäure. Da

1) Zu Beginn des Eindampfens betrug die Säurekonzentration höchstens 1,5 Proz.

2) Kreatinmenge = (Maximum Gesamtkreatinin — Praeformiert. Kreatinin) × 1,32.

3) Gefaulte Lösung.

4) Analyse von Baur und Barschall l. c. p. 565. In etwa 1/3 normaler Salzsäure 4 Std. auf dem Wasserbad erwärmt.

beim Eindampfen jeder beliebigen Salzsäurekonzentration schließlich eine 20proz. Salzsäure resultiert[1]), so scheint uns die partielle Kreatininzerstörung bei Gottliebs Anordnung erklärlich.

Wir sind nicht der Ansicht, daß der Ausfall unserer Versuche mit Fleischextrakt bezüglich der Salzsäurekonzentration ohne weiteres auf Lösungen beliebiger Provenienz übertragbar ist und schließen aus dem uns bekannten Versuchsmaterial, daß bisher noch nicht entschieden ist, wie groß die Säurekonzentration sein muß, um aus beliebigen Lösungen das Kreatin quantitativ in Kreatinin überzuführen.

Die Kreatinbestimmung in Organen, z. B. im Muskel, hat ihre besonderen Schwierigkeiten. Das mehrfache Extrahieren mit 55 bis 60° warmens Wassers[2]) liefert ebensowenig wie Auskochen mit Wasser völlig quantitative Ausbeuten (Gottlieb und Stangassinger). Hoogenhuyze und Verploegh haben allerdings nach dieser Methode außerordentlich hohe Kreatinwerte colorimetrisch bestimmt.

Wir sind so vorgegangen, daß von vornherein nur das Gesamtkreatinin bestimmt wurde. Das Fleisch wurde in der Maschine zermahlen, in einer reichlichen Menge, etwa 1 Proz. Salzsäure zunächst aufgekocht und ca. 12 Stunden auf dem kochenden Wasserbade stehen gelassen, bis großenteils Lösung eingetreten war und das Ungelöste als feiner Schlamm auf dem Boden des Gefäßes lag. Nach der Abkühlung wurde die stark verdünnte Lösung durch vorsichtiges Neutralisieren (und Zusatz von ein wenig Zinksulfat) von der Hauptmenge des Eiweißes befreit. Der Filterrückstand wurde nochmals mit Salzsäure wie oben behandelt. Die vereinigten Filtrate wurden bei schwach essigsaurer Reaktion auf ein bestimmtes Volumen bei möglichst niedriger Temperatur eingedampft. Ein aliquoter Teil auf 4,56 Proz. Salzsäuregehalt gebracht, wurde dann noch 3 Stunden auf dem Wasserbade erhitzt, endlich die colorimetrische Bestimmung vorgenommen.

Der Vergleich der eben geschilderten Methode mit der Wasserextraktion ergab folgendes Resultat:

Von einer größeren Portion feinzerkleinerten Rinderfiletfleisches wurde Probe A mit Salzsäure 1 Proz. aufgeschlossen, Probe B 2 mal längere Zeit auf dem Wasserbade bei ca. 60° digeriert, coliert, der Rückstand wiederholt mit Wasser ausgekocht, die vereinigten Fil-

---

1) cf. Ostwald, Grundlinien der Anorganischen Chemie, 1900, p. 189.

2) cf. Thierfelder, Handbuch der Physiol. Chemisch. Analyse, VI, 495.

trate (nach dem Enteiweißen) eingeengt, dann mit Salzsäure behandelt.

30,1177 g Fleisch, enthalten zur Konstanz getrocknet, 8,0210 g gleich 26,63 Proz. Trockensubstanz.

Probe B 254,10 g nach dem Einengen auf 500 ccm aufgefüllt; 50 ccm zur colorimetrischen Bestimmung mit Salzsäure erhitzt, auf 1000 verdünnt. Abgelesen 6,0 mm, entsprechend 0,02667 g Kreatinin.

0,2099 Proz. Gesamtkreatinin in frischen Fleisch

7,881 Proz. in der Tr S.

Probe A. 224,19 g mit Salzsäure aufgeschlossen, dann mit dem Einengen auf 500 ccm aufgefüllt, 50 ccm zur colorimetrischen Bestimmungen mit Salzsäure erhitzt, auf 1000 verdünnt. Abgelesen 4,9 mm entsprechend 0,03333 zu Kreatinin. **0,2975 Proz.** Gesamtkreatinin im frischen Fleisch, **11,17 Proz.** in der Tr. S.

Die erhebliche Differenz beider Werte zugunsten der mit Salzsäure aufgeschlossenen Probe beziehen wir auf die Unvollständigkeit der Wasserextraktion.

Nicht genügend bisher gewürdigt erscheint uns der bereits erwähnte Übelstand bei der Invertierung des Kreatins durch Säuren, nämlich die intensive Dunkelfärbung der mit Salzsäure behandelten Lösungen. Mehrfach findet sich in den Arbeiten die allgemeine Bemerkung, von den entstehenden schwarzen Flocken sei abzufiltrieren, oder die (selbst nach Filtration häufig noch intensive) Dunkelfärbung störe bei der großen Verdünnung nicht. Verschiedene, ganz gleich aussehende Harne geben nach der Salzsäurebehandlung sehr verschieden starke Verfärbungen, die so stark mitunter sind, daß z. B. 40 ccm mit Salzsäure behandelter Harn auf 500 ccm aufgefüllt, noch sehr erheblich orangegelb gefärbt war, während derselbe Harn unbehandelt bei gleicher Verdünnung fast ganz farblos erschien [1]). Dasselbe gilt für Organextrakte.

---

1) Den Einfluß dieser Verfärbung auf den Ausfall der Gesamtkreatininbestimmung haben inzwischen Forschbach und Weber weiter verfolgt. Wir stellten eine natronalkalische Lösung reiner Pikraminsäure her und bestimmten bei passender Verdünnung nach Folin im Colorimeter die Färbungsintensität. Dann wurden verschiedene helle und dunkelgefärbte Harne vor und nach dem Behandeln mit Salzsäure (neutralisiert) mit der gleichen Pikraminsäurelösung auf dasselbe Volumen (500 ccm) gebracht und wiederum die Färbungsintensität gemessen. Zunahme der letzteren konnte dann nur von den Farbstoffen des Urins herrühren. Wir fanden, daß in einem Falle 10 ccm eines schon vor der Salzsäurebehandlung dunkel gefärbten Harnes, nach derselben die Färbekraft der Pikraminsäure von 4,7 mm auf 4,2 mm veränderten, genau dieselbe Differenz, die derselbe Harn direkt und nach der Salzsäurebehandlung bei der

Wir glaubten, in dieser Verfärbung eine Fehlerquelle sehen zu sollen und veranlaßten Herrn Medizinalpraktikanten Dreibholz systematische Untersuchungen in dieser Richtung anzustellen. Die ausführliche Publikation dieser Beobachtungen wird an anderer Stelle erfolgen. Hier seien nur einige der gemachten Feststellungen erwähnt.

Der naheliegende Versuch, mit Bleiacetat die Lösungen zu entfärben, erwies sich als nicht angängig, da ein nicht unerheblicher Teil des Kreatinins in dem Bleiniederschlage zurückbleibt. Die Verwendung von Tierkohle ist ebensowenig ratsam. Sodann zeigte sich, daß verschiedene Säurekonzentrationen auf verschiedene Harne verschieden einwirkten, indem bald eine stärkere, bald eine geringere Säurekonzentration die höchsten Werte gab, ohne daß man übrigens sagen konnte, daß der höchsten Säurekonzentration die dunkelste Färbung oder der dunkelsten Färbung der höchste Kreatininwert entsprach. Öfters schien es uns als ob eine auftretende gelbliche Farbennuance das Rot der Pikraminsäure teilweise verdeckte. Den gelegentlichen Befund v. Klerckers und Dorners, daß die Säurewirkung (selbst bei geringer Konzentration) den Ablesungswert herabsetzt, haben wir gar nicht so selten gehabt.

So brauchbar demnach die Folinsche Methode für die Bestimmung des im Harne präformierten Kreatinins ist, so erscheint es doch unsicher, aus der Zunahme der Jafféschen Reaktion nach der Behandlung mit Salzsäure bestimmte Angaben über den etwaigen Kreatiningehalt zu machen, wenn nicht ganz große Unterschiede zwischen präformierten und Gesamtkreatinin hervortreten, wie das Folin, v. Klercker, Gottlieb und Stangassinger, Dorner, und hier und da einmal auch wir gesehen haben.

II. Experimentelle Untersuchungen.

Seitdem man sich mit dem Kreatinstoffwechsel beschäftigt, sind die Kontroversen darüber nicht verstummt, wie das Kreatinin des Harns mit dem Kreatingehalt des Muskels bei Muskelruhe und -arbeit in Beziehung zu setzen sei. Man untersuchte das Muskelkreatin bei Muskelruhe und -arbeit, den Kreatiningehalt des Harns unter denselben Bedingungen und kam zu widersprechen-

---

Kreatininuntersuchung ergab. Es wurden hier erhebliche Mengen von Kreatin (0,4 g in der Tagesmenge) durch die Verfärbung des Urins bei der Salzsäurebehandlung vorgetäuscht.

den Resultaten. Liebig[1], Sarokin[2], Sczelkow[3], Monari[4]) vertraten die Ansicht, im arbeitenden (bzw. tetanisierten) Muskel sei mehr Kreatin als im ruhenden, Voit[5] und namentlich Nawrocki[6] behaupteten ebenso entschieden, bei der Muskeltätigkeit weniger oder nur ebensoviel (Nawrocki) Kreatin wie im ruhenden Muskel gefunden zu haben.

Ebenso widersprechend sind die Ansichten über das Harnkreatinin. Grocco[7], Moitessier[8], Gregor[9] fanden bei Muskelarbeit das Harnkreatinin vermindert, Voit[10], Hoffmann[11], Oddi und Tarulli[12], in neuester Zeit Hoogenhuyze und Verploegh[13] (mit neuer Methode) konnten keine Änderung der Kreatininausscheidung finden.

Diese merkwürdigen, entgegengesetzten Resultate der Beobachtungen sind sicher zum großen Teile der angewendeten, nicht einwandfreien Methodik zuzuschreiben. Nach der Schaffung der neuen Methode von Folin[14], die wenigstens für die Kreatininbestimmung im Urin exakte Werte liefert, haben sich Hoogenhuyze und Verploegh[15] in einer wichtigen Arbeit mit dem Einfluß der Muskelarbeit auf die Kreatininausscheidung unter verschiedenen Ernährungsbedingungen in Selbstversuchen und an anderen Menschen beschäftigt. Sie kommen zu dem Schluß, daß bei verschiedenartigster Ernährung, wenn sie nur ausreichend ist, Muskelarbeit nicht den geringsten Einfluß auf die Kreatininausfuhr des Menschen hat. Nur im Hungerzustande steigert erhebliche Muskelarbeit die Kreatininausscheidung. — Im Hungerzustande fand übrigens Demant[16] (mit alter Methode) den Kreatingehalt des Muskels vermehrt.

Über den Gehalt der Muskeln bei Ruhe und Arbeit ist bisher eine Untersuchung mit der neuen Methode nicht ausgeführt.

1) Annal. d. Chem. u. Pharmac. 1848.
2) Virch. Arch. 28, 551, 1863.
3) Centralbl. d. Mediz. Wissensch. 1866.
4) Arch. ital. di Biol. 13, 1, 1890.
5) Zeitschr. f. Biol. IV, p. 87—92.
6) Centralbl. f. d. mediz. Wissensch. 1866, Nr. 40, p. 625—628.
7) Ann. di chim. e di farm. 4, 211, 1886.
8) Compt. rend. Soc. biol. 43, 573, 1891.
9) Ztschr. Physiol. Chem. 51, 98—118, 1900.
10) l. c. p. 106.
11) Virch. Arch. 48, 358, 1869.
12) Boll. dell' Acad. Med. di Roma 19, Heft 2, 1893.
13) Ztschr. Physiol. Chem. 46, 415—471, 1905.
14) Ztschr. Physiol. Chem. 41, 223—242, 1904.
15) l. c.
16) Ztschr. f. Physiol. Chem. 3, 387, 1879.

Wir suchten zunächst diese Lücke durch eigene Versuchsreihen auszufüllen und bedienten uns dazu teilweise in älteren Arbeiten verwendeter Versuchsanordnungen.

Wir bedienten uns zur Bestimmung des Gesamtkreatinins, auf das es uns in diesen Versuchungen allein ankam, der in der oben beschriebenen und diskutierten Methode, obgleich wir weit davon entfernt sind, sie für eine ideale zu halten. Immerhin glauben wir, daß die mit der Folinschen Methode für Muskelgewebe usw. gefundenen Werte dem wahren Gehalte näher kommen als die mit der älteren gefundenen Zahlen.

Die beste Versuchsanordnung scheint die folgende, uns von Herrn Prof. Minkowski empfohlene zu sein.[1]) Man läßt ein (möglichst großes) Herz im Langendorffschen Apparat arbeiten und untersucht nach ausgiebiger Tätigkeit des Herzens den Herzmuskel und die Ringersche Flüssigkeit auf ihren Kreatingehalt Findet man in der Durchströmungsflüssigkeit die Base, so ist erwiesen, daß sie vom Herzen bei der Arbeit abgegeben ist. Nimmt während des Versuches die Summe des der Lösung plus Herzen enthaltenen Kreatins im Vergleiche zum normalen Kreatingehalt des Herzens ab oder zu, so ist Kreatin verbraucht oder neu gebildet worden.

So durchsichtig diese Anordnung ist, so haben wir einer technischen Schwierigkeit doch nicht Herr zu werden vermocht. Sie betrifft die analytische Seite des Versuches. Da es schon auf geringe Differenzen ankommt, so spielt das Herzgewicht eine große Rolle. Wir sind nicht imstande ein frisches Herz von 10—20 gr, auf dessen Muskelgewicht es ankommt, genau analytisch zu wägen.

Wir versuchten weiter, die Trockensubstanz des Herzmuskels der Berechnung zu Grunde zu legen. Es gelang uns aber nicht, der Trockensubstanz selbst durch sehr sorgfältige langdauernde Extraktion mit heißem Wasser oder heißer dünner Salzsäure das Kreatin zu entziehen. Vielleicht würde eine Vorbehandlung mit Pepsin-Salzsäure oder Aeterextraktion die quantitative Ausbeute ermöglichen. Bisher haben wir in dieser Richtung noch keine Versuche angestellt. Die Feststellung des Kreatingehaltes im durchströmten Herzen hat noch das Mißliche, daß allem Anscheine nach das Herz mit dem Ringer stark imbibiert ist. Zerschneidet man den vorher sorgfältig mit Wasser abgespülten, abgetrockneten Herzmuskel in kleine Würfelchen, so sieht man diese nach kurzer Zeit in einer reichlichen Menge hellgelblicher, bald gelatinös erstarrender Flüssigkeit schwimmen.

Infolge der erwähnten Schwierigkeiten haben wir die uns interessierenden Fragen bisher nur teilweise erledigen können. So viel

1) Eine analoge Anordnung hat J. Müller, Ztschr. f. allgem. Physiol. III, p. 293 zum Studium des Zuckerverbrauches angewendet.

können wir mit Sicherheit aus unseren Versuchen folgern: Schlägt ein Herz im Langendorffschen Apparate einige Stunden gut, so findet man in der Ringerschen Flüssigkeit deutlich nachweisbare Mengen von Kreatinin (nach Salzsäurebehandlung). Wir geben in der folgenden Tabelle die Resultate der Versuche (soweit sie brauchbar ausfielen) wieder.

Tabelle II.

		Gewicht des Herzens gr	Im Herzen Kreatinin [1]) gr	%	Trockensubstanz des Herzens %	In der Ringerschen Flüssigkeit Kreatinin [1]) gr
Hund.	Normales Herz	139,50	0,1493	0,107	—	
	„	67,60	0,0736	0,109	—	
Hund.	Herz nach dem Langendorffversuch; keine regelmäßige Tätigkeit	36,10	0,0246	0,068	14,29	Keine Spur
Katze.	Herz nach dem Langendorffversuche; schlechte, bald versagende Tätigkeit	8,60	0,00656	0,076	—	Spur
Katze.	Langendorffversuch. Gute 3 ½ stündige Arbeit	14,85	0,00988	0,0667	—	0,00370
Katze.	Langendorffversuch. Gute 2 ½ stündige Arbeit	15,70	0,00992	0,0632	—	0,00152
Katze.	desgl.	6,48	—	—	17,20	0,00356
Katze.	desgl.	9,46	—	—	15,70	0,00308
Katze.	Sehr gute 4stünd. Arbeit	22,50	—	—	14,70	0,00340
Katze.	Mäßig gute Arbeit 2 Std.	29,10	0,01985	0,0681	—	0,00152[2])

Die in der Ringerschen Flüssigkeit gefundenen Kreatininmengen sind in den gut gelungenen Versuchen relativ beträchtliche, in einem Versuche über 30 Proz. des im Herzen noch vorhandenen. Bemerkenswert ist, daß in zahlreichen — sämtlich mißlungenen — Versuchen am Hundeherzen die etwa eine Stunde durchgeströmte Lösung keine Spur von Kreatinin enthielt, daß auch der in der Tabelle angeführte halbmißlungene Katzenversuch nur Spuren von Kreatinin in der wie stets stark eingeengten Ringer'schen Flüssigkeit erkennen ließ, und endlich daß im letzten Versuche der Tabelle das ziemlich mäßig arbeitende Katzenherz nur sehr wenig Kreatinin an die Ringer'sche Flüssigkeit abgab.

Nur bei guter Arbeit des Herzens werden ganz erhebliche Mengen Kreatinin oder Kreatin an die durchblutende

1) „Kreatinin" soll heißen: Gesamtkreatinin nach der Säurebehandlung.

2) Die Ringersche Lösung dieses Versuches war ohne Zucker hergestellt; vielleicht daher die weniger befriedigende Herztätigkeit und daraus resultierende geringere Kreatininausfuhr.

Flüssigkeit abgegeben, dem ruhenden Muskel wird durch die Durchströmung kein Kreatin entzogen.

Allgemein ausgedrückt kann man sagen: Der kräftig arbeitende Muskel gibt mehr Kreatinin oder Kreatin an das Blut ab, als der schwächer arbeitende, oder ruhende.[1])

Erscheint diese Menge nicht im Urin, so muß sie im Organismus deponiert oder (in der Leber oder Schilddrüse, Gottlieb und Stangassinger) zersetzt worden sein.

Im Anschluß hieran berichten wir über Untersuchungen des Gesamtkreatiningehaltes des Herzens und Muskulatur von 2 in Cinchoninkrämpfen verstorbenen Hunden. Wir fanden im Herzen frisch 0,104 und 0,140 Proz. Gesamtkreatinin, also etwa normale Werte. Die Körpermuskulatur zeigte etwas unternormalen aber nicht erheblich veränderten Gesamtkreatiningehalt 0,148 Proz. (cf. Tabelle II.) Eine markante Änderung des Kreatingehaltes der Muskulatur war also durch diese Krämpfe nicht erreicht. (cf. dagegen die Befunde von Monari:)

In einer weiteren Versuchsanordnung, die der von Nawrocki ähnlich war, verglichen wir normale und gelähmte Muskeln am selben Hunde auf ihren Gesamtkreatiningehalt. Es wurde einem Hunde der eine Nerv. Ischiadicus durchschnitten und nach mehreren Wochen die von diesem Nerven versorgten Muskeln untersucht. Die Muskeln des gelähmten Beines waren erheblich kreatininärmer als die des normalen Beines. In der folgenden Tabelle sind die Ergebnisse unserer Gesamtkreatinuntersuchungen in Muskeln zusammengestellt.

Tabelle III.

		Gesamtkreatiningehalt im frisch. Muskel	Gesamtkreatiningehalt in der Trock.-subst.	Trockensubstanz %	Stickstoffgehalt im frisch. Muskel	Stickstoffgehalt in der Trock.-subst.
Hund mit einseitiger Ischiadicusdurchschneidung	normale Oberschenkelmusk.	0,1801	0,681	26,46	3,62	13,65
	gelähmte "	0,1092	0,432	25,27	3,39	13,42
Normaler Hundemuskel	Probe a	0,1966	0,787	25,56	3,23	12,63
	Probe b	0,2088	0,817	25,56	3,23	12,63
" "	Durchschnittswerte	0,1952	0,726			
Hundemuskeln nach Cinchonienkrämpfen		0,1481				
Hundemuskeln im Pancreasdialectus		0,1588	0,681	23,32	3,464	14,91
Katzenmuskulatur normal		0,2264	0.875	25,87	3,900	15,08
" "		0,2100	0,804	26,10		

1) Ob dies von der stärkeren Durchbeutung des tätigen Muskels, oder von besonderen chemischen Vorgängen (Spaltung einer lockeren Kreatin-Eiweißverbindung) abhängt, bleibt unentschieden.

Finden wir in den Muskeln nach Krämpfen sogar eine geringe Verminderung des Kreatiningehaltes, im Zustande der Untätigkeit nach Nervendurchschneidung eine starke Abnahme, so liegt hierin nur scheinbar ein Widerspruch. Wir erklären den Befund so: Der krampthaft arbeitende Muskel mag mehr Kreatin bilden wie der ruhende, jedenfalls wird bei der Arbeit mehr entfernt bzw. fermentativ (Gottlieb und Stangassinger) zerstört. Der untätige Muskel mußte Kreatin in sich aufspeichern, wenn zwar weniger gebildet, aber das einmal entstandene noch langsamer aus dem Muskel entfernt oder zerstört wird. Unsere gelähmten Muskel waren aber nicht nur untätig, sondern degenerativ atrophisch, und unter den Umständen ist offenbar die Bildung des Kreatin noch geringer als die Beseitigung des vorhandenen.

Die andere Seite der Frage nach dem Zusammenhange des Kreatins mit der Muskelarbeit: Gelangt mehr Kreatinin im Harn zur Ausscheidung? ist für den Menschen von Hoogenhuyze und Verploegh (mit Folins Methode) dahin beantwortet: Nur im Hungerzustande vermehrt Muskelarbeit die Kreatininausscheidung.

Da wir vom Tetanus (Forschbach und Weber[1]) her nur wissen, daß bei dieser allerdings krampfhaften pathologischen Form der Muskelarbeit das Harnkreatin relativ zum Gesamtstickstoff erhöht ist[2]), so versuchten wir am Tiere experimentell festzustellen, wie Krämpfe auf die Kreatininausscheidung wirken. Wir wählten als Krampfgift Cinchonin, daß von Heffter[3]) als besonders für Katzen geeignet und relativ unschädlich befunden war. In größeren Dosen subkutan injiziert, erzeugte das Cinchoninum sulfuricum Merck bei unseren Hunden nach relativ langer Latenzperiode sehr energische, anhaltende klonische und tonische Krämpfe, tötete aber doch leicht durch Herzlähmung.

---

1) Centralbl. f. Physiol. u. Pathol. d. Stoffwechsels 1906, Nr. 18.

2) Wir fanden dort Keratinin N = 8,3 Proz. des Gesamt-N. In einem zweiten nicht publizierten Falle von Tetanus fanden wir Kreatininstickstoff sogar 13,6 Proz. der Gesamt N. Am 9. Hungertage machte in den Untersuchungen von Hoogenhuyze und Verploegh (l. c. p. 468, 19. VI. 05.) uuter der Nachwirkung von Muskelarbeit der Kreatininstickstoff nur 3,61 Proz. des Total N. aus. In dem hier weiter unten zu besprechenden Versuche am normalen Menschen fanden wir nach der Aufnahme von 25 g Liebigs Fleischextrakt, bei stärkerer Kreatininvermehrung, welcher die Gesamtstickstoffsteigerung nicht gleichzeitig entsprach, den KreatininN = 4,7 Proz. des Gesamt N.

3) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 31, 225—280 1893.

Wir haben aus diesem Grunde nur einen gelungenen Versuch zu verzeichnen.

Männlicher Teckel von 6,8 kg erhält am 7. Januar 1907 die letzte Fütterung. Dann Karenz bis 14. Januar einschließlich. Urin durch Katheter entnommen. 11. Januar mittags 1 Uhr 0,75 gr Cinchon. sulf. in 10 ccm gelöst, subkutan. 1 Uhr 28′ Erbrechen, mehrmalige Defaecation. 1 Uhr 50′ heftige tonische und klonische Krämpfe, keuchende Atmung, Zwerchfellkrämpfe, bis 3 Uhr fast ununterbrochen. Dann allmählich immer seltener werdende Anfälle. In der Zwischenzeit spastische Starre des Tieres. 5 Uhr 10′ weitere 0,4 gr subkutan. Um 6 Uhr wiederum heftige Krämpfe bis 8 Uhr abends. Um 9 Uhr keine Krämpfe mehr. Am 12. Januar ist das Tier noch sehr matt, sonst sind keine Nachwirkuugen zu merken.

Tabelle IV.

Datum	Harnmenge	N gr	Kreatinin gr	Kreatinin N = % Total N	
10.I.07	94	1,51	0,182	4,48	Am 7.I.07 letzte Fütterung. Seitdem Hunger
11.	117	3,29	0,238	2,64	Cinchoninkrämpfe Hunger
12.	82	3,28	0,185	2,10	Hunger
13.	94	8,55	0,200	0,87	Hunger
14.	154	8,27	0,234	1,05	Hunger
15.	100	4,07	0,147	1,34	Gewicht 6250 g 200 ccm Milch 50 g Brotpulv.

Zu Beginn des Versuchs befindet sich das Tier am dritten Hungertage mit entsprechenden Stickstoff- und Kreatininwerten. Am Cinchonintage steigt der Stickstoff erheblich an, auch die Kreatininmenge ist um 31 Proz. vermehrt, um am nächsten Tage wieder zur Norm zurückzukehren. Am zweiten und dritten Tage nach den Krämpfen steigt die Stickstoffausscheidung ganz enorm bis auf das $3^{1}/_{2}$ fache des Vortages an, auch die Kreatininmenge ist wieder vermehrt. Aus Stab 5 der Tabelle ersieht man die Unabhängigkeit der Kreatininausscheidung vom Stickstoff.

Der geringe Prozentsatz zu dem das Kreatinin trotz seiner absoluten Vermehrung, im Cinchoninkrampfversuche am Gesamtstickstoff beteiligt ist (2,6 Proz.), läßt für die Tetanuskrankheit mit ihrem hohen Kreatinin N Gehalte (8,3 Proz.) schließen, daß hier die Gesamtstickstoffmenge abnorm klein ist, selbst wenn die Kreatininmenge absolut normal bleibt, cf. Senator[1]).

Heftige Muskelkrämpfe verursachten beim hungernden Hunde eine deutliche absolute Vermehrung des Harnkreatinins und eine sehr starke relative Verminderung

1) Berl. klin. Wochenschr. 1905, Nr. 44a.

derselben im Verhältnis zum Gesamtstickstoff. Hoogenhuyze und Verploegh fanden in ihrem Hungerversuche am Menschen eine Kreatininvermehrung um nur 2,4 Proz. durch normale Muskelarbeit, wir dagegen durch Cinchoninkrämpfe 31 Proz. Steigerung.

Ein anderer Versuch sollte den Einfluß normaler, angestrengter Muskeltätigkeit (stundenlanges Laufen im Tretrade) auf die Kreatinausscheidung bei eben ausreichender Nahrung am Hunde prüfen, ein Pendant zu den Selbstversuchen von Hoogenhuyze und Verploegh. Ohne hier auf dieses Experiment näher eingehen zu wollen, sei bemerkt, daß im Mittel von 5 Ruhetagen (22., 23., 27.. 28. Juni und 1. Juli) 0,264 g, im Mittel von 2 Arbeitstagen 9. und 10. Juli) 0,177 g Kreatinin zur Ausscheidung kamen. Das heißt: Starke Muskelarbeit setzte bei gleicher Ernährung die Kreatininausscheidung dieses Hundes herab.

Soweit aus diesem einen Versuche ein Schluß auf das Verhalten des Hundes überhaupt gezogen werden darf, müssen wir folgern, daß sich der Hund bezüglich des Kreatininstoffwechsels anders verhält als der Mensch (Hoogenhuyze und Verploegh), wozu im Harnsäurestoffwechsel gewissermaßen ein Analogon gegeben wäre. Wir würden aus den beiden letzten Versuchen mit aller Reserve folgern, daß das Kreatin, welches bei der Arbeit den Muskel teilweise verläßt, (cf. unsere Herzversuche) bei koordinierter Muskelarbeit unter normalen Ernährungsbedingungen verbraucht wird, beim Tetanus bzw. Cinchoninkrampfe aber nicht oxydiert zu werden vermag. Zur Prüfung dieser Idee haben wir in dem Laufversuche das an Fleischbase reichen Liebigsche Fleischextrakt verfüttert. Wir erwarteten bei Muskelruhe mehr von dem Kreatinin desselben als beim Laufen im Urine wiederzufinden. Der Versuch lehrte, daß das nicht der Fall war. Von 55 g Fleischextrakt erschienen in der Ruhe 0,445 g, bei der Arbeit 0,650 g Kreatinin wieder.

Tabelle V.

Datum	Harnmenge	Kreatinin g		
22. VI. 07	144	0,286	250 g Fleisch täglich	Ruheversuch
23. VI.	160	0,267		
24.	73	0,276 [1])		Kreatinmenge berechnet
25.	251	0,644 [1])	+ 25 g Liebigs Fleischextr.	

1) Die Katheterisation am 25. VI. war unvollständig. Es wurde daher in der Mischung der Urine vom 24. und 25. VI. das Kreatinin bestimmt, und von der Gesamtmenge der Durchschnitt von der Kreatininmenge des 22. und 23. VI. als wahrscheinlicher Wert für den 24. VI. angenommen, der Rest für den 25. in Rechnung gesetzt.

Datum	Harnmenge	Kreatinin g		
26. VI.	110			Ruheversuch
27.	123	0,242		
28.	160	0,276		
29.	184	0,702	+ 25 g Fleischextrakt	
30.	159	0,164		
1. VII. 07	153	0,250		
				Laufversuch
2.—8. VII.			250 g Fleisch weiter	tgl. 3 Std. im Tretrad
9. VII.	111	0,167		3 Std. Laufversuch
10.	100	0,186		
11.	246	0,728	+ 25 g Fleischextrakt	5 1/2 Std. gelaufen
12.	148	0,184		3 1/2 „ „
13.	186	0,232		Ruhetag
14.	136	0,216		2 1/2 Std. gelaufen

Junger lebhafter männlicher Bastardhund von 8,78 kg. Seit etwa 8 Tagen 250 g Pferdefleisch täglich. Vom 22. VI. ab katheterisiert. 25. VI. 25 g Liebigs Fleischextrakt mit dem Fleische. Urinabgrenzung ungenau. 29. VI. wieder 25 g Fleischextrakt. Vom 2. VII. ab lauft das Tier täglich etwa 3 Stunden im Tretrad. Urinuntersuchung am 9. VII. wieder begonnen. 11. VII. 25 g Fleischextrakt und 5 1/2 Stunden Laufen. 12. VII. 3 1/2 Stunden im Tretrad. 13. VII. Ruhetag. 14. VII. 2 Stunden Laufen.

Es wurden in diesem Versuche vom praeformierten Kreatinin 59,3 Proz. und 73,3 Proz. wiedergefunden.

Was aus eingeführtem Kreatin und Kreatinin im Organismus des Säugetiers wird, ist schon oft untersucht worden. Die alte Beobachtung von Meißner[1]), daß in den Magen, oder unter die Haut gespritztes Kreatinin aber auch Kreatin ganz oder fast ganz im Harn wiedererscheint, und zwar als Kreatinin, ist von den Neueren nicht ganz bestätigt. Hoogenhuyze und Verploegh fanden von 0,5 g Kreatinin 87,5 Proz. (im Mittel von 4 Selbstversuchen) wieder. Folin[2]) hatte ähnliche Resultate mit Kreatinin. Für das Kreatin aber kamen sowohl Folin wie v. Klercker zu anderen Ergebnissen wie Meißner. Erstere fanden beide von eingegebenem Kreatin nichts als Kreatinin wieder, was um so auffallender ist, als Meißner mit seiner Methode sicher kein Kreatin als Kreatinin mitbestimmt hat und eher zu wenig wie zuviel Kreatinin im Harne finden mußte. Folin und v. Klercker fanden dagegen aufgenommenes reines Kreatin zu einem mehr oder weniger großen Teile als solches im

1) Ztschr. f. rationelle Mediz. 31, 234, 1868.

2) Festschrift für Hammarshu, 1906.

Harne wieder, und zwar um so weniger Kreatin, je eiweißärmer die Nahrung war. Das Kreatin ward teilweise retiniert.[1])

Nach Folin ist das Kreatin eine Art Nährstoff, das Kreatinin lediglich Abfallsprodukt, eine Auffassung der sich v. Klercker anschließt.

Die Ausscheidung des Kreatins und Kreatinins nach Aufnahme von Liebigschem Fleischextrakt hat von Klercker an sich studiert. Er findet in einem Versuche nach 130 g Extrakt (mit 1,12 g Kreatinin und 0,89 g Kreatin) eine Kreatininvermehrung um 0,75 g und eine Kreatininausscheidung von 0,18 g (wohl noch innerhalb der Fehlerquellen). Nach 260 g (!) Extrakt mit 1,6 g Kreatinin und 2,66 g Kreatin: 0,82 g mehr Kreatinin und 0,82 g Kreatin am Versuchstage.

Zunächst fällt uns der ganz abnorm geringe Kreatiningehalt des Fleischextraktes auf. (cf. unsere Fleischextraktanalysen).

Dafür, daß das im Harne nicht als solches gefundene Kreatin nicht doch zu Harnstoff zersetzt worden ist, scheint uns der Beweis nicht erbracht.

Wenn von 2,59 g aufgenommenen Kreatins 1,9 g (= 0,6 g N) nicht im Harne erschienen (Klercker l. c. p. 80), so könnte der darin enthaltene N in dem Plus von 1 g Stickstoff, welches am Versuchstage gegen Vor- und Nachtag ausgeschieden ist, enthalten sein, wenngleich wegen der sonstigen Schwankungen der Stickstoffmenge nicht bestimmt behauptet werden kann, daß es sich so verhält.

Der Beweis für die Unangreifbarkeit des exogenen Kreatins scheint uns ebensowenig wie für die des Kreatinins bisher geliefert.

Wir haben im allgemeinen auf Kreatinbestimmungen im Urin verzichtet, weil, wenn überhaupt Kreatin im Harn auftritt, es meist nur minimale Mengen sind, für die die Sicherheit der Folinschen Methode nicht ausreichend erscheint, und weil man ferner doch nie sicher ist durch die Säurebehandlung wirklich alles Kreatin in Kreatinin umgewandelt zu haben. Auch können wir nach den vorliegenden Versuchen uns nicht zu der Lehre Folins bekennen, daß Kreatin und Kreatinin zwei für den Haushalt des Körpers toto genere verschiedenwertige Körper seien.

---

1) Bei der leichten Umwandlung von Kreatinin in Kreatin durch Alkalien ist es wahrscheinlich, daß das Kreatinin zu einem mehr oder weniger erheblichen Teile in Kreatin umgewandelt resorbiert wird. Warum findet man nach Kreatininfütterung nicht auch eine Kreatinvermehrung im Harn?

Vorderhand vermögen wir den Widerspruch in dem Ergebnisse seres Cinchonin- und Laufversuchs nicht genügend zu erklären.

Sicher ist, daß der arbeitende Muskel Kreatin oder Kreatinin die ihn durchströmende Flüssigkeit abgibt, und daß Kreatinin rch den Organismus (die Fermente Gottliebs) zersetzt werden nn. Für höchst wahrscheinlich halten wir den Übergang von reatin in Kreatinin.

Einen Fütterungsversuch mit Liebigschem Fleischextrakt am enschen fügen wir als Parallele zu v. Klerckers Versuchen er an.

Arbeiter P., 36 Jahre alt, geheilter Fall von leichtem Magen-tarrh. Gewicht 66,0 kg. Erhielt kreatinarme Kost: 300 g eißbrot, 1200—1400 ccm Milch, 100 g Fleisch, 4 Eier, 100—125 g itter, 100 g Kartoffeln.

Am vierten Versuchstage: Einmalige Zulage von 25,0 g Extract. rnis Liebig.

Am Ende des Versuches Gewicht 66,0 kg.

Tabelle VI.

Datum	Harnmenge	Spez. Gew.	Gesamt-Stickstoff g	Harnsäure g	Kreatinin g	
5. I 07	1800	1015	11,76			
26.	650	1927	10,16	i. D.	1,250	
27.	700	1029	13,33	0,486	1,333	
28.	920	1030	15,86	0,746	2,000	Zulage: 25 g Liebigs Fleischextrakt
29.	850	1030	16,91	i. D.	1,482	
30.	840	1026	16,35	0,578	1,357	

Bei kreatinarmer, aber ausreichend eiweißhaltiger Kost scheidet e Versuchsperson im Mittel der Vortage 11,75 g N und 1,290 g 19,5 mg pro kg Körpergewicht Kreatinin aus.

Die Zulage des Fleischextrakts steigert die Stickstoffausfuhr am ersuchs- und beiden Nachtagen erheblich. Das Kreatinin ist um 708 g am Versuchstage vermehrt. Am ersten Nachtage ist noch ne unerhebliche Kreatininsteigerung von 0,19 g gegen die Vortage konstatieren. Das Kreatinin wird erheblich rascher als die rigen stickstoffhaltigen Endprodukte des Fleischextraktes ausschieden.

Vergleicht man die Kreatininvermehrung in unserm Versuche it der von v. Klerckers, so zeigt sich, daß trotz verschiedener engen der zugeführten Basen sehr ähnliche Mengen Kreatinin ausschieden werden (cf. Tabelle VIII).

Tabelle VII.

	Zugeführt			Darin ausgeschieden	
	Fleischextrakt	darin			
		Kreatinin	Kreatin.	Kreatinin	Kreatin.
v. Klercker	130 g	1,12	0,89	0,72	0,18
v. Klercker	260 g	1,60	2,66	0,82	0,82
Weber	25 g	0,75		0,90	

v. Klercker hat mehr Kreatinin genommen und etwas weniger ausgeschieden als unsere Versuchsperson. Vielleicht war die Resorption infolge der abundanten Menge Fleischextrakt bei ihm ungünstiger.

Am wichtigsten aber erscheint mir der Umstand, daß bei uns die Kreatininvermehrung im Harne unverkennbar die Kreatininzufuhr mit dem Fleischextrakt übersteigt, daß also mit höchster Wahrscheinlichkeit vom Kreatin ein Teil im Organismus zu Kreatinin geworden ist.

V.

Aus der medizinischen Klinik in Greifswald. (Direktor Prof. Dr. O. Minkowski).

Kreatininausscheidung bei Krankheiten.

Von

Dr. J. Forschbach, Assistent der Klinik.

Die Erforschung des Kreatin- und Kreatininstoffwechsels beim Menschen und beim Tier hat seither fast ausschließlich zum Experiment am normalen Organismus gegriffen. Pathologische Zustände sind für die Ergründung der überaus schwierigen Probleme so gut wie gar nicht herangezogen worden. Wo bei Krankheiten Kreatininbestimmungen im Harne gemacht sind, bilden sie, abgesehen von einigen älteren Untersuchungen (K. B. Hofmann), gewöhnlich nur eine Ergänzung zur Stickstoffverteilung im Harn, und es muß begreiflich erscheinen, daß sehr viele davon bei ihrer geringen Zahl und dem Fehlen der notwendigen äußeren Versuchsbedingungen für die spezielle Beurteilung des Kreatininstoffwechsels nur geringen Wert beanspruchen dürfen.

Wenn in vielen Beziehungen die Stoffwechselforschung der Pathologie die größten Fortschritte verdankt, so darf man annehmen, daß auch für das Kreatinin, für seine Entstehung und seinen Abbau die Physiologie großen Nutzen aus systematischen Untersuchungen an kranken Menschen ziehen wird. So liefert vielleicht das Studium der Kreatininausscheidung bei pathologisch gesteigerter Muskelarbeit (Paralysis agitans, Tetanus), bei Lähmung und Atrophien der Muskeln in größerer Ausdehnung wertvolle Ergänzungen für die Frage nach dem Zusammenhange zwischen Harnkreatinin und Muskelarbeit resp. Muskelmasse. Daß Kreatin und Kreatinin größtenteils „endogene" Produkte sind, darf als erwiesen angesehen werden. Entsprechend könnten solche pathologische Zustände noch wichtige Aufschlüsse geben, die zu einer Steigerung des allgemeinen und insbesondere des Eiweißstoffwechsels füh-

ren, z. B. Fieber und Steigerung der Schilddrüsenfunktion. Durch Beobachtung anderer Krankheitsbilder würde man möglicherweise der Erkenntnis näher kommen, inwieweit beide Basen als Produkte eines ganz speziellen Eiweißumsatzes, z. B. des Abbaues der Nucleinsubstanzen gelten dürfen. Nach dieser Richtung dürften z. B. die Gicht und die Leukämie interessieren.

Von einigen dieser Gesichtspunkte ließen wir uns bei der Untersuchung verschiedener pathologischer Zustände leiten, deren Ergebnis in folgendem mitgeteilt sei.

Vorausgeschickt sei noch ein Wort über die äußeren Bedingungen, deren Einhaltung bei Kreatininuntersuchung überhaupt im Interesse der möglichsten Ausschaltung aller Fehlerquellen unbedingt geboten erscheint, leider aber bei kranken Menschen nicht immer durchführbar ist.

Da es zunächst auf die Zahl des „endogenen" Kreatinins im Harne ankommt, so muß die Nahrung möglichst kreatin- und kreatininfrei sein; denn wir wissen aus den Untersuchungen zahlreicher Autoren, daß die zugeführten Basen zu einem unkontrollierbaren Teile im Harne wieder erscheinen. Eine vegetabilische Diät paßt daher für alle Versuchsanordnungen am besten; in welchem Verhältnis sie sich aus Eiweiß, Fett und Kohlehydraten zusammensetzt, ist irrelevant. Läßt sich eine Fleischzufuhr nicht vollständig umgehen, so hält man am besten die Tagesmengen stets konstant oder besser, man reicht das Fleisch ausgekocht etwa mit einer schmackhaften vegetabilischen Sauce. Solange wir nicht genau wissen, wie unter Umständen Muskelarbeit die Kreatininwerte beeinflussen könnte, wird die Versuchsperson am besten Bettruhe einhalten. Fieberperioden werden wir aus den Versuchsreihen besser ausschalten, solange nicht sicher feststeht, daß die Kreatininausscheidung von der Fieberwirkung nicht alteriert wird. Auf Körpergewichtsveränderungen ist deshalb großer Wert zu legen, weil die Kreatiningröße nach Folin durchgehends eine Funktion des Körpergewichts ist; von Bedeutung ist natürlich, ob die Gewichtsveränderung auf Ansatz resp. Verlust von Körpersubstanz oder etwa auf Schwankungen des Wassergehalts der Gewebe zu beziehen ist.

In Fällen von Schwund oder hochgradigen Veränderungen der Muskulatur hat bereits früher die Kreatininausscheidung im Harne in dem Maße interessiert, als die älteren Autoren mehr wie die jüngeren einzig und allein die Muskeln als Produktionsstätte des Kreatinins ansahen. Wir können die vorliegenden Unter-

suchungen älteren Datums über diesen Gegenstand in Kürze behandeln. Rosenthal[1]), Weiß[2]), Langer[3]), Jacubowitsch[4]) fanden bei progressiver Muskelatrophie, Pinter[5]) in einem Falle von Myositis ossificans progressiva übereinstimmend eine Verminderung des Kreatinins im Harne. J. Müller[6]) hat in der Kritik dieser Arbeiten hervorgehoben, daß die dort gefundenen Kreatininwerte meist nur nebensächlich gemachte Erhebungen und als solche in Ermangelung vieler wichtiger ergänzender Angaben wertlos sind. Übrigens kann man die Resultate der angeführten Beobachtungen schon deshalb nicht nebeneinanderstellen, weil in den einzelnen Fällen der Grad des Muskelschwunds ein sehr verschiedener ist.

Auch für die neueren Ansprüche korrekter sind die Untersuchungen J. Müllers[7]) an einer progressiven Muskelatrophie spinaler Form in einem Grade, daß mindestens zwei Drittel der Gesamtmuskulatur des Körpers als vernichtet angesehen werden konnte.

In einer dreitägigen Periode schied der Kranke bei einer Fleischzufuhr von 150 g Rindfleisch, dessen Kreatingehalt zu 0,37 g angenommen wurde, durchschnittlich 0,846 g Kreatinin pro die aus (Neubauersche Methode). An zwei „weiteren" (folgenden?) Tagen, an denen die Nahrung fleischfrei gehalten wurde, betragen die Kreatininwerte am ersten 0,2546, am zweiten 0,6457 g. Die Tagesausscheidung 0,2546 g weicht einerseits stark von der des Nachtages ab, andererseits aber liegt sie noch weit unter dem Werte, den z. B. Hoogenhuyze und Verploegh[8]) im Hunger gefunden haben (4. Tag der Hungerperiode der Tosca 0,634 Kr). Ihr Wert erscheint uns daher zur Durchschnittsberechnung für eine nur zweitägige Periode ungeeignet.

Wir verfügen über eine längere Beobachtungsdauer einer Kranken, die an progressiver juveniler Muskelatrophie litt, und geben den Status soweit wieder, als er hinsichtlich des Gegenstandes interessiert:

Es handelt sich um ein 19jähriges Dienstmädchen, das seit etwa

---

1) Rosenthal, Hdb. d. Diagn. u. Therap. d. Nervenkr. Erlangen 1870.
2) Weiß, Wiener med. Wochenschr. 1877, p. 701 —, ibid. 1883, p. 613.
3) Langer, D. Arch. f. klin. Med. 32, p. 395.
4) Jacubowitsch, nach Ref. Neurol. Ctrblatt. 1884, p. 279.
5) Pinter, cit. nach Müller cfr. (6).
6) Müller, Stoffwechseluntersuchungen bei einem Fall von progr. Muskelatrophie. Hab. Schrift, Würzburg 1896.
7) l. c.
8) Ztschr. f. phys. Chem. 46, 1905, p. 468.

4 Jahren eine allmählich zunehmende Funktionsstörung bei Bewegungen der Oberarme wahrgenommen hatte.

Gänzlich geschwunden sind bei der Patientin die Pectoralismuskulatur, die Mm. serrati antici, die gesamte Muskulatur der Scapulae, der obere Teil der Trapezii und die Beugemuskulatur der Oberarme, atrophisch sind die Mm. deltoidei.

Die Patientin hat normales Fettpolster und ein Körpergewicht von 51 kg.

Während der Beobachtungszeit wurde eine praktisch so gut wie kreatin- und purinfreie Nahrung nach einem Regime gereicht, das wir noch ausführlicher bei den Untersuchungen an Leukämischen besprechen werden. Die Verdauung war normal; Fieber bestand nicht. Das Körpergewicht schwankte zwischen 51,0 und 51,2 kg.

Tabelle I.

Datum	Urinmenge	Ng	Harnsäure g	Kreatinin g	P_2O_5	Bemerkungen
28. II. 07.	1225	11,080	—	0,8602	—	Körpergewicht am 25. II. 51,0 kg
1. III.	1120	12,320	—	0,9412	—	
2.	870	9,184	—	0,8330	—	
3.	1085	10,752	0,476	0,8694	2,06	
4.	800	10,304	im Durchschnitt	0,8330	im Durchschnitt	Körpergewicht 51,2 kg
5.	600	9,128		0,9640		
6.	840	10,864	0,630	1,6000	2,49	25,0 Liebigs Fleischextr.
7.	1495	10,192		0,8600	1,89	
8.	1180	9,968	0,438	—	1,70	Körpergewicht 51,0 kg
9.	1240	10,300		—	1,44	

Im Durchschnitt scheidet die Patientin in der Periode 28. Febr. bis 5. März 0,8834 g Kreatinin aus, also pro kg Körpergewicht 17,3 mg, ein Wert, der als normal angesehen werden darf. Größeren Schwankungen unterliegen die Kreatininwerte nicht: das Maximum beträgt 0,964 g am 5., und das Minimum 0,833 am 2. und 4.

Über die Änderung der Kreatininausscheidung nach der Aufnahme von 25 g Liebig-Extrakt berichten wir weiter unten.

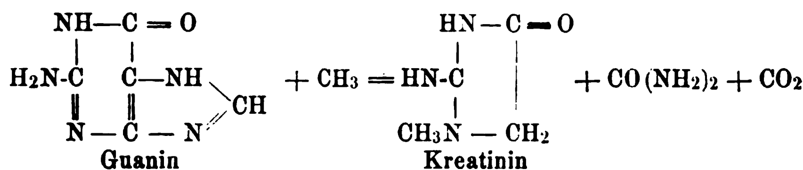
Fälle, in denen die Körpermuskulatur in größerer Ausdehnung geschwunden ist, als in dem unserigen, müssen lehren, ob sich da der gleiche normale Befund erheben läßt.

Burian[1]) hat gelegentlich einer von ihm noch nicht näher begründeten Auffassung Ausdruck gegeben, die Purinbasen und das

1) Burian, Ztschr. f. phys. Chem. 43, 1904, p. 546.

Kreatin des Muskels entstammten ein und demselben chemischen Grundprozeß, und dabei als sicher hingestellt, daß bei der Bildung dieser Substanzen Nucleine resp. Nucleoproteide keine Rolle spielen. Auch Jaffé[1]) glaubt auf Grund von eigenen Beobachtungen die Abstammung des Kreatins von den Nucleinsubstanzen in Abrede stellen zu müssen. Dorner[2]) hat inzwischen die von Jaffé erwogene Frage in der Weise geprüft, daß er bei einem Hunde die Kreatininausscheidung nach Verfütterung großer Thymusmengen verfolgte. Er fand nicht die geringste Steigerung der Kreatininausfuhr. Wie wir bei unserer Untersuchung an einem Falle von Morbus Basedowii noch zeigen werden, kommen wir auf Grund von Thymuszufuhr beim Menschen zum gleichen Resultat.

Theoretisch erscheint ja die Vorstellung, daß Kreatin und Kreatinin Produkte des Kernzerfalles sind, insofern durchaus annehmbar begründet, als die dem Kreatinkomplex eigene Atomgruppierung, z. B. in dem Pyrimidinkern des Guanins vorgebildet ist.



Experimentell versuchten wir im November 1906, den Einfluß subkutan und intravenös zugeführten Guanins auf die Kreatininausscheidung beim Hunde zu prüfen. Doch scheiterten die Versuche an der auch schon von anderen Autoren hinderlich befundenen Unlöslichkeit des Guanins in für die Einverleibung verwendbaren Medien. Zufuhr von dem an Guanin reichen Pankreas in größeren Quantitäten, wie wir sie bei einer Basedowkranken vornahmen, steigerte die Kreatininausscheidung ebenso wenig wie Thymus.

Durch diese wenigen Versuche ist zwar wahrscheinlich gemacht, daß der Körper aus zugeführten Nucleinsubstanzen kein Kreatin und kein Kreatinin macht, aber noch nicht erwiesen, daß auch die durch Kernzerfall entstehenden endogenen Abbauprodukte wie die Purinbasen keine Kreatininbildner sind.

Ein geeigneter Weg zur Entscheidung dieser Frage schien uns der, dem Ablauf der Kreatininausscheidung bei einem pathologischen Zustand nachzugehen, der nachweislich mit starker Kernzerstörung

---

1) Jaffé, Ztschr. f. phys. Chem. 48, 1906, p. 463.
2) Dorner, Ztschr. f. phys. Chem. 52, 1907, p. 227—278.

und dadurch erheblichen Alterationen des Nucleinstoffwechsels einhergeht — wir meinen die Leukämie. Die übergroße Bildung und Zerstörung weißer Blutkörper führt bei dieser Erkrankung zu erheblichen Veränderungen des Purinkörperstoffwechsels, die vielfach durch periodisch auftretende Schwankungen in der Menge der ausgeschiedenen endogenen Harnsäure zum Ausdruck kommen.

Als Teile von ausführlichen Harnanalysen enthalten schon ältere Arbeiten einige spärliche Angaben über die Kreatininausscheidung bei der Leukämie.

Wir würden uns versagen, an der Arbeit v. Moraczewski's [1]) — v. Stejskal und Erben [2]) haben bereits die Unhaltbarkeit vieler Zahlenangaben des Autors dargetan — Kritik zu üben, wenn nicht ihre Ergebnisse in dem neuesten Handbuch der Stoffwechselkrankheiten von von Noorden unangefochten Aufnahme gefunden hätten. Aus der durch Druckfehler getrübten Darstellung des Blutbildes können wir für den ersten untersuchten Fall v. Moraczewski's mit Wahrscheinlichkeit annehmen, daß es sich um eine myelogene Leukämie gehandelt hat. Bei einer Nahrung, die außer 150 g Kotelette 400 ccm Bouillon enthält, sind im Urin nach einer nicht näher genannten Methode Bestimmungen einer Substanz vorgenommen, die in den Tabellen bald als Kreatinin, bald als Kreatin, bald unter der Abkürzung Kreat. figuriert. Das erklärt die Auffassung von H. Strauß [3]), v. Moraczewski habe im leukämischen Urin Mengen von 0,05 g Kreatin gefunden. Wir möchten glauben, daß seine Zahlen sich nur auf Kreatinin beziehen. Die gewöhnlich aus 2 Tagesmengen gewonnenen Durchschnitte schwanken zwischen 0,240 g (VI. Periode) und 0,18 g (VII. Periode), bedeuten demnach bei einer fleisch- und bouillonhaltigen Kost nicht nur, wie der Autor meint, keine auffallende Vermehrung, sondern eine ganz ungewöhnliche Verminderung der Kreatininausscheidung. Es soll hierbei nicht unerwähnt bleiben, daß in der Periode VII 6 Tage lang zwei Thyreoidintabletten verabreicht wurden.

Das Urteil über die Höhe der Kreatininausscheidung bei einer Erkrankung, die v. Moraczewski als Pseudoleukämie bezeichnet, stützt sich auf 2 Bestimmungen, deren Tagesdurchschnitt von 0,390 g jedenfalls keine Steigerung der Kreatininausfuhr beweisen.

Die erwiesenermaßen auf Irrtümern beruhenden Werte für N und U in dieser Arbeit legen auch bei der Bewertung der Kreatininresultate die größte Skepsis auf.

Die Stoffwechselversuche, die v. Stejskal und Erben [4]) an je einer lymphatischen (l. c.) und myelogenen Leukämie angestellt haben, enthalten auch einige Kreatininanalysen, die wir hier der Übersicht

1) v. Moraczewski, Virchows Archiv 151 H. 1, 1898. p. 22—52.

2) C. v. Stejskal u. F. Erben, Ztschr. f. klin. Med. 39, 1900, p. 153.

3) Blutkrankheiten in v. Noordens Handbuch der Stoffwechselkr. Bd. I, p 919, 1906. 4) l. c.

wegen mit den zugehörigen Phosphorsäure- und Harnsäurewerten in den Tabellen II und III wiedergeben.

Die lymphatische Leukämie betraf eine 50jährige zu Beginn des Stoffwechselversuchs 72¾ kg wiegende Frau. Die Temperaturen waren zeitweilig auf 38° erhöht. Während der Untersuchungsperiode fiel die Zahl der Leukocyten von 120 000 auf 80 000, das Körpergewicht stieg von 72¾ auf 73½ kg. Die Nahrung enthielt am ersten Tage der 5tägigen Periode 60, an den folgenden Tagen je 100 g Schinken; sonst war sie purin- und kreatinarm. Die Bestimmungen geschahen nach der Methode von Neubauer-Salkowski.

Tabelle II.

Datum	Harnmenge in ccm	N in g	Kreatinintagesmenge in g	Harnsäure in g	P_2O_5 Urin	P_2O_5 Kot
10. IV.	955	6,02	0,01	0,78	1,003	Durchschnitt 2,132
11.	1087	7,04	0,01	0,61	0,775	
12.	1247	6,81	0,01	0,50	0,671	
13.	1675	10,20	0,02	0,84	0,801	
14.	1582	9,63	0,02	0,75	1,538	

Legt man 73 kg Körpergewicht der Bestimmung zugrunde, so erhält man auf das kg Körpergewicht die erstaunlich geringe Kreatinmenge von 0,137 mg!

Geringer erscheint die Herabsetzung in einem Falle von myelogener Leukämie.

Der 40jährige stark abgemagerte Patient hatte während des Versuchs kein Fieber; sein Körpergewicht blieb konstant. Die Zahl der Leukocyten stieg von 408 000 auf 438 000. Die Nahrung war im wesentlichen die gleiche wie in Fall 1.

Tabelle III.

Datum	Harnmenge in ccm	N in g	Kreatinintagesmenge in g	Harnsäure in g	P_2O_5 Urin	P_2O_5 Kot
9. IV.	1182	15,96	0,47	1,09	2,017	im Durchschnitt 1,946
10.	905	16,19	—	1,06	2,036	
11.	863	16,13	0,28	1,06	1,751	
12.	1135	16,56	—	1,01	1,479	
13.	1435	17,08	0,26	1,11	1,302	

Da leider eine Angabe über das Körpergewicht fehlt, so läßt sich die Kreatininmenge pro Kilo nicht ersehen. Wir glauben aber ohnedies annehmen zu müssen, daß die erhaltenen Werte sehr niedrig sind.

Es bot sich uns Gelegenheit, bei 2 Fällen von myelogener Leukämie, beide im vorgeschrittenen Stadium und zweifellos häufig einsetzenden akuten Exacerbationen, die Kreatininausscheidung zu

verfolgen. Nach den üblichen Methoden bestimmten wir in der 24stündigen Harnmenge den Stickstoff, das Kreatinin und im 2. Falle auch die Phosphorsäure. Die Harnsäureanalysen nach Mörner wurden im Fall 2 täglich, im Fall 1 zum Teil im Mischharn von 5tägigen Perioden gemacht.

Das starke Harnsäuresediment im Urin zwang uns meistens, die am Glase haftenden Massen mit Lauge zu lösen. Sofort wurde dann aber mit dem Auffüllwasser die für die Herstellung einer schwach sauren Reaktion nötige Menge Essigsäure zugesetzt, sodaß eine längere alkalische Beschaffenheit der Harne mit Rücksicht auf die Kreatininbestimmung vermieden wurde.

Was die Ernährung betrifft, so waren wir bei Fall 1 infolge der Aversion der Patientin gegen Fleisch in der Lage, 25 Tage hindurch eine absolut fleischfreie Diät einzuhalten. (12. Jan. bis 5. Febr. 07). Sie bestand ausschließlich aus Brot, Butter, Kartoffeln, Eiern und Milch. Im Falle 2 mußten neben einigen vegetabilischen Zulagen gewöhnlich 100 g ausgekochten Fleisches, 25 g Cacao und 400 ccm dünnen Kaffeeaufgusses gereicht werden. Da Sivèn[1]) nachgewiesen hat, daß mit der Bouillon dem Fleische die harnsäuresteigernde Wirkung genommen wird, so war praktisch auch im Falle 2 die Kost purin- und kreatinfrei. Wir dürfen demnach die in unseren Untersuchungen gewonnenen Zahlen auf den endogenen Harnsäure- und Kreatininanteil beziehen.

Wichtige Veränderungen im klinischen Bild, therapeutische Eingriffe, sowie besondere Zulagen sind in den Tabellen in der Rubrik „Bemerkungen“ eingetragen.

In kurzer Fassung seien die Krankheitsgeschichten wiedergegeben.

Fall 1.

Juliane Kr., 38jährige Arbeiterfrau. Im Mai 1906 Beginn der Erkrankung mit Appetitlosigkeit, Abmagerung, allgemeiner Hinfälligkeit und Hautblässe. Kurzatmigkeit und Anschwellung der Unterschenkel führten die Kranke im Juli 1906 in die Klinik. Aus dem Blutbefunde und der ungeheuren Milzschwellung konnte die Diagnose: Leukämie gestellt werden. Ohne Besserung verließ die Kranke nach einem Monat die Klinik, mußte sie aber Neujahr 1907 wegen Verschlimmerung wieder aufsuchen.

Aufnahmebefund am 1. Januar 1907: Mittelgroße Frau. Ernährungszustand leidlich gut. Fahl-gelbliches Hautkolorit. Blasse Schleimhäute. Keine Ödeme. Cervical-Axillar- und Inguinaldrüsen als bohnengroße harte Tumoren fühlbar. Kleine Struma. — Allgemeine Bronchitis. — Auswurf frei von Tuberkelbazillen. — Herz nicht vergrößert.

---

1) Sivèn, cit. nach v. Noorden, Handb. d. Stoffwechselkr. Bd. I, p. 124.

— Im linken Abdomen, nach rechts bis ungefähr zur Mittellinie, nach unten bis in die Höhe der Spin. iliac. ant. sup. reichend, ein harter Tumor, der sich als vergrößerte Milz erweist. — Leber nur wenig vergrößert. — Urin frei von Eiweiß und Zucker. — Körpergewicht 51.5 kg. — Temperatur 38.6°. Kein Durchfall.

Blutbefund am 2. Januar 1907: Hämoglobingehalt: 50 Proz. nach Sahli.
Erythrocyten: 2 600 000
Leukocyten: 136 000.

Differentialzählung der weißen Elemente am 12. Januar 1907 bei 110 000 Gesamtleukocyten:

Neutrophile polymorphkernige Leukocyten	9	Proz.
Eosinophile polymorphkernige Leukocyten	15,5	„
Große Lymphocyten	5	„
Kleine Lymphocyten	2	„
Neutrophile Myelocyten	38	„
Eosinophile Myelocyten	27	„
Übergangsformen	4	„

Diagnose: Leucämia myelogenes.

Tabelle IV.

Versuchstag	Datum	Körpergewicht	Urinmenge	N in g	Harnsäure in g	Kreatinin in g	Diät	Bemerkungen
1.	8. I. 07	52,5 kg	1060	—	—	0,785	Gemischte Diät	
2.	9.		1054	—	—	0,727	Gemischte Diät	
3.	10.		1100	8,12	1,27	0,785	Gemischte Diät	
4.	11.		980	—	0,72	0,667	130 Brot, 50 Butter, 50 Kartoffel, 3 Eier, 750 Milch, 50 ausgekocht. Fleisch	
5.	12.		870	—	—	0,625	110 Brot, 70 Butter, 50 Kartoffel, 4 Eier, 100 Milch	Abendtemp. 37.8° Leucocyten 110 000
6.	13.		920	6,66	0,798	0,690	100 Brot, 100 Butter, 40 Kartoffel, 4 Eier, 1000 Milch	Abendtemp. 37.3°
7.	14.	53,5	830	6,50	1,34	0,782	100 Brot, 70 Butter, 40 Kartoffel, 4 Eier, 1000 Milch	Abendtemp. 37.9°
8.	15.		840	6,27	1,70	0,548	110 Brot, 60 Butter, 40 Kartoffel, 3 Eier, 1000 Milch	Leichter Durchfall Leichter Ascites nachweisbar Abendtemp. 37.4°
9.	16.		1150	7,39	1,54	0,645	80 Brot, 40 Butter, 3 Eier, 750 Milch	Abendtemp. 38.2°
10.	17.		900	7,78	1,85	0,796	100 Brot, 20 Butter, 2 Eier, 750 Milch, ca. 30 g Liebigs Fleischextrakt	
11.	18.		930	7,39	1,35	0,667	130 Brot, 30 Butter, 40 Kartoffel, 4 Eier, 1000 Milch	

Versuchstag	Datum	Körpergewicht	Urinmenge	N in g	Harnsäure in g	Kreatinin in g	Diät	Bemerkungen
12.	19.		1060	7,22		0,630	150 Brot 30 Butter 40 Kartoffel 4 Eier 1000 Milch	
13.	20.		1040	9,69	1,12 im Durchschnitt	0,714	140 Brot 40 Butter 50 Kartoffel 4 Eier 1000 Milch	Abnahme des A
14.	21.	52,0 kg	1530	7,952		0,588	140 Brot 30 Butter 40 Kartoffel 4 Eier 1000 Milch	
15.	22.		1490	8,848		0,571	150 Brot 30 Butter 40 Kartoffel 4 Eier 1000 Milch	300 Sekunden 1 gegend mit Rön strahlen bestr
16.	23.		2050	10,5	0,875	0,675	100 Brot 30 Butter 40 Kartoffel 4 Eier 1000 Milch	
17.	24.		2040	7,98	0,840 im Durchschnitt	0,587	110 Brot 70 Butter 40 Kartoffel 4 Eier 1000 Milch	
18.	25.		2200	8,61	0,997	0,658	100 Brot 30 Butter 40 Kartoffel 4 Eier 1000 Milch	300 Sekunden 1 gegend mit Rön strahlen bestr
19.	26.		1940	7,812		0,635	100 Brot 30 Butter 30 Kartoffel 4 Eier 1000 Milch	
20.	27.		1630	8,40		0,702	100 Brot 30 Butter 50 Kartoffel 4 Eier 1000 Milch	360 Sekunden B bestrahlung
21.	28.	51,3	1760	7,56		0,678	90 Brot 20 Butter 30 Kartoffel 4 Eier 1000 Milch	
22.	29.		1720	7,34	0,980 im Durchschnitt	0,678	110 Brot 30 Butter 4 Eier 1000 Milch	360 Sek. Rückenbe lung Leucocyten
23.	30.		1580	6,832	0,896	0,727	120 Brot 30 Butter 40 Kartoffel 1000 Milch 4 Eier	
24.	31.		1440	6,72		0,667	150 Brot 20 Butter 40 Kartoffel 4 Eier 1000 Milch	
25.	1.		1410	5,60		0,533	100 Brot 20 Butter 3 Eier 750 Milch	400 Sekunden B bestrahlung
26.	2.		1540	8,40		0,667	150 Brot 20 Butter 30 Kartoffel 2 Eier 750 Milch	
27.	3.		1120	6,97	0,952	0,645	150 Brot 20 Butter 30 Kartoffel 3 Eier 1000 Milch	
28.	4.	50,5	1880	7,41		0,635	100 Brot 20 Butter 30 Kartoffel 3 Eier 1000 Milch	
29.	5.		980	6,61		0,702	110 Brot 30 Butter 30 Kartoffel 3 Eier 1000 Milch	

Während der Versuchszeit hielt die Kranke Bettruhe ein. Bei einer gemischten Kost, die allerdings nur wenig Fleisch enthielt, wurde von Versuchstag 1—3 im Mittel 0,766 Kreatinin bei 52,5 kg Körpergewicht ausgeschieden, als pro kg 14,5 mg Kreatinin. In der Periode vom Versuchstag 3—29 (mit Ausnahme des Tages, an dem Liebig-Extrakt zugelegt wurde), stellt sich bei purin- und kreatinfreier Diät die Durchschnittsmenge auf 0,662 g, bei einem Körpergewicht von 52 kg, demnach auf 12,3 mg pro kg Körperwicht. Dabei schwankten die Zahlen zwischen 0,533 g (am Versuchstage 25) und 0,782 g (am Versuchstag 7). Eine Ausscheidung von 12,3 mg pro kg Körpergewicht müssen wir als niedrige bezeichnen.

Schon Folin[1]) stellte fest, daß die Kreatininausscheidung beim gesunden Menschen in weitgehender Unabhängigkeit von dem Gesamtstickstoffumsatz steht. So beobachtete er die frappante Erscheinung, daß das gleiche Individuum gleiche Kreatininmengen verliert, das eine Mal in 2300 ccm Harn mit 15,8 g N, das andere Mal in 505 ccm Urin mit 2,7 g N. In unserer Tabelle lehrt der Vergleich etwa der Versuchstage 6 und 16, daß bei 6,66 g N 0,69 g, bei 10,5 g N 0,675 g Kreatinin zur Ausscheidung kommen. Wir können also die Folinschen Ergebnisse auch für unseren pathologischen Fall bestätigen.

Das Verhältnis zwischen Harnsäure- und Kreatininmenge charakterisiert besonders markant die Periode von Versuchstag 4 bis 9. Während der Harnsäurewert vom Versuchstag 4 ab bis zum Versuchstag 8 von 0,72 g auf 1,70 g also um mehr als das doppelte gestiegen ist, sind die Kreatininwerte sogar von 0,667 g auf 0,548 g zurückgegangen. Die Kreatininausscheidung steigt also keineswegs mit dem Anschwellen der Harnsäurezahl.

Andererseits aber kann man aus der Tabelle auch kein umgekehrtes Ausscheidungsverhältnis herausdeuten, indem z. B. Versuchstag 7 (1,34 g Ū und 0,782 g Kreatinin) beweist, daß gelegentlich einmal einem hohen Harnsäurewert auch eine hohe Kreatininzahl entsprechen kann. Zur Illustration des Gesagten fassen wir die Perioden Versuchstage 4—6 und 7—9 folgendermaßen zusammen.

Versuchstage	Harnsäuredurchschnitt mg	Kreatinindurchschnitt mg
4—6	0,759	0,660
6—9	1,52	0,658

1) Folin, Americ. Journ. of Phys. 13, 1905, p. 84.

Von der Einwirkung der Röntgenbestrahlungen, mit denen am Versuchstag 15 begonnen ist, sahen wir ebensowenig wie auf die Harnsäure einen wesentlichen Einfluß auf das Kreatinin. Dabei ist die Leukocytenzahl am Versuchstag 22 auf 45000 zurückgegangen.

	Harnsäuredurchschnitt mg	Kreatinindurchschnitt mg
Vorperiode: Versuchstag 1—14	1,08	0,659
Röntgenperiode: Versuchstag 14—19	0,92	0,655

Endlich scheinen auch die zwischen den Versuchstagen 5 und 9 aufgetretenen, allerdings unbedeutenden Temperatursteigerungen ohne Einfluß gewesen zu sein. Für die quantitativen Ausscheidungsverhältnisse des Kreatinins nach Aufnahme von Liebigs Fleischextrakt ist der Versuch nicht zu verwerten, weil die Patientin von den zugewogenen 40 g Extrakt nur einen unkontrollierten Teil nahm.

Fall 2.

Amanda B., 22jähriges Mädchen; leidet seit einem Jahr an zunehmender Abmagerung, Stichen unter dem linken Rippenbogen Anschwellung der linken Bauchseite und zeitweise an heftigem Nasenbluten. Sie findet am 27. Juni 1907 Aufnahme in die Klinik.

Aufnahmebefund am 28. Juni 1907: Blasse Hautfarbe. Schlechter Ernährungszustand. In der Leistenbeuge beiderseits einige bohnengroße Lymphdrüsen; sonst keine Drüsentumoren nachweisbar. Keine Ödeme. — Lungen und Herz gesund. — Leber überragt in der Mammillarlinie um 2 Querfinger den Rippenbogen. — Im Bereich des ganzen linken Abdomens und eines Teiles der rechten Regio hypogastrica dextr. ist ein 35 cm langer, oben 21 unten 26 cm breiter Tumor fühlbar, die vergrößerte Milz. — Der Urin ist stark sauer und frei von pathol. Bestandteilen. — Stuhlgang normal. — Körpergewicht 45.8 kg. — Temperatur 36.6°.

Blutbefund am 29. Juni 1907: Hämoglobingehalt 50 Proz. nach Sahli.
Erythrocyten: 170000
Leukocyten: 430000.

Die Differentialzählung ergibt.:

Neutrophile polymorphkernige Leukocyten	8	Proz.
Eosinophile polymorphkernige Leukocyten	12	=
Lymphocyten	7	=
Übergangsformen	18	=
Neutrophile Myelocyten	34	=
Eosinophile Myelocyten	22	=

Tabelle V.

Versuchstag	Datum	Urinmenge	N g	Ü g	Kreatinin g	P_2O_5 g	Körpergew. kg	Temperatur °Cels.	Diät	Bemerkungen
1.	28. VI. 07.	1017	10,584	1,075	0,588	1,600	45,8	M: 36,8 A: 36,5	Gemischte Diät	
2.	29.	1180	14,528	1,069	0,6897	0,88	—	M: 36,5 A: 36,6	Brot 414 Milch 230 Butter 100 Zucker 30 Kartoffeln 130 Kakao 10 Eier 3 Gries 15 Ausgekocht. Fleisch 100	
3.	30.	905	12,80	0,793	0,6016	1,06	—	M: 36,0 A: 38,2	Brot 385 Zucker 40 Butter 90 Kakao 15 Kart. 150 Mondamin 15 Eier 2 Fleisch 100 Milch 220	Leucocyten 420000
4.	1. VII. 07.	910	11,301	0,954	0,5857	3,038	45,8	M: 37,1 A: 37,3	Brot 160 Milch 190 Butter 80 Zucker 30 Kart. 100 Mondamin 15 Eier 3 Fleisch 100	Nasenbluten
5.	2.	810	10,684	0,789	0,5854	3,241	—	M: 37,8 A: 38,1	Himbeersaft 60 ccm Eier 2 Zucker 10 g	Nasenbluten Appetitlosigkeit
6.	3.	905	11,681	1,199	0,6144	3,118	45,8	M: 36,9 A: 37,8	Brot 100 Kakao 15 Butter 50 Mondamin 15 Eier 3 Zucker 20 Milch 1200	
7.	4.	910	—	—	0,6304	—	—	M: 37,2 A: 37,4	Brot 120 Mondamin 10 Butter 50 Kartoffel 100 Milch 1200 Himbeersaft 40 Zucker 20 Eier 4 Kakao 10 Reisbrei 100 Fleisch 50	
8.	5.	895	11,607	1,042	0,6861	1,745	46,2	M: 36,8 A: 37,4	Brot 227 Zucker 25 Butter 60 Kakao 15 Milch 1700 Griesbrei 220 Eier 4 Himbeersaft 40 Fleisch 50	Nasenbluten
9.	6.	1070	12,635	1,076	0,6633	1,504	—	M: 36,6 A: 38,3	Brot 270 Kartoffeln 150 Butter 70 Gemüse 100 Eier 4 Zucker 25 Milch 1400 Kakao 15 Kaffee 400 Fleisch 100	Nasenbluten Leucocyten 510000
0.	7.	1060	11,362	1,346	?	?	47,8	M: 37,6 A: 37,9	Brot 305 Zucker 37 Butter 70 Kartoffeln 100 Milch 1600 Mondamin 15 Kaffee 400 Eier 4 Kakao 15 Fleisch 100	Nasenbluten
1.	8.	1250	12,320	1,484	0,9746	2,56	—	M: 37,3 A: 38,1	Brot 270 Kartoffel 140 Butter 70 Zucker 30 Milch 900 Eier 3, Kak. 15 Liebig-Extrakt 25 g Kaffee 400 Hafersup. 500 Gemüse 55 Fleisch 100	Nasenbluten

Versuchstag	Datum	Urinmenge	N g	Ū g	Kreatinin g	P_2O_5 g	Körpergew. kg	Temperatur °Cels.	Diät	Bemerkungen
12.	9. VII. 07.	1110	13,160	1,327	0,755	2,82	47,6	M: 37,0 A: 37,8	Brot 400 Butter 100 Kaffee 400 Milch 1400 Kart. 100 Gemüse 50 Zucker 20 Kakao 15 Nudeln 15 Eier 3 Fleisch 100	Leucocyten
13.	10.	1250	13,048	1,218	0,7275	2,10	—	M: 37,2 A: 37,5	Brot 375 Butter 100 Milch 1400 Kaffee 400 Kakao 15 Mondam. 15 Zucker 25 Kartoffeln 100 Gemüse 50 Eier 2 Fleisch 100	
14.	11.	1160	12,488	1,310	0,500	2,32	48,0	M: 36,5 A: 37,7	Brot 350 Butter 80 Milch 1400 Kaffee 400 Kakao 15 Mondam. 15 Kartoffeln 100 Gemüse 50 Zucker 30 Eier 3 Fleisch 100	

Die Untersuchungen an der Patientin B. hätten unsere Resultate von Fall 1 in noch wünschenswerterer Weise ergänzt, wenn es uns gelungen wäre, für die ganze Periode in der kreatin- und purinfreien Nahrung auch die Phosphorzufuhr konstant zu erhalten. Dennoch gestatten uns z. B. die beiden Versuchstage 3 und 4, an denen die Nahrung annähernd die gleiche bleibt, festzustellen, daß einem Emporschnellen des P_2O_5-Wertes von 1,06 auf 3,038 g ein geringes Absinken des Kreatininwerts von 0,6016 auf 0,5857 g entspricht. In diesem Falle hängt die hohe Ausscheidungsgröße der Phosphorsäure augenscheinlich wenig von der Nahrung ab; denn am Versuchstag 5 steigt er trotz einer ganzen minimalen Nahrungszufuhr noch auf 3,241 g an.

Die Patientin scheidet in einer Periode, die Versuchstag 2—9 umfaßt, im Mittel 0,6320 g Kreatinin bei 45,9 kg Körpergewicht aus, d. i. pro kg Körpergewicht 13,8 mg, ein Wert, der eben unterhalb der physiologischen Grenze steht. Das Maximum findet sich am Versuchstag 2 mit 0,6897, das Minimum am Versuchstag 14 mit 0,500 g. Bezüglich der Abhängigkeit der Kreatiningröße von den N und Ū-Zahlen verhält sich Fall 2 genau wie Fall 1. Auf die Bedeutung der Liebig-Extrakt-Zufuhr kommen wir noch zurück.

Resümierend dürfen wir also sagen, daß 1. bei zwei Fällen von myelogener Leukämie die absoluten Tagesmengen des Kreatinins gegen die Norm etwas vermindert

sind. Allerdings erreichen sie nicht die niedrigen Beträge, die Stejskal und Erben[1]) für ihre myelogene Leukämie feststellten, geschweige denn die erstaunlich unternormalen Werte ihrer lymphatischen Leukämie. 2. Die Ausscheidungsgröße des „endogenen" Kreatinins bleibt in beiden Fällen auch bei großen Schwankungen der „endogenen" Harnsäurewerte und der Phosphorsäure konstant und steht keinesfalls in einer gesetzmäßigen Abhängigkeit zu einem dieser Stoffe.

Kam es uns bei den Untersuchungen an Leukämischen wesentlich darauf an, die Kreatininausscheidung bei größeren Schwankungen des Nucleinstoffwechsels zu verfolgen, so schien die Frage nicht minder beachtenswert, inwieweit die Schilddrüse bei ihrem weitgehenden Einfluß auf den Energiehaushalt des Körpers, namentlich den gesamten Eiweißstoffwechsel an der Regelung des Kreatin- und Kreatininumsatzes Anteil hat. Zum Kreatininstoffwechsel bei herabgesetzter Schilddrüsenfunktion hat Scholz[2]) in seinen Untersuchungen an Kretinen einige wertvolle Beiträge geliefert. Die Kreatininwerte, die er an zwei jüngeren Individuen bei einem täglichen Fleischkonsum von nur 100 g Kalbfleisch fand, lassen sich mit Berücksichtigung des Körpergewichts in folgender Tabelle zusammenfassen.

Tabelle VI.

Fritz M., 20 Jahre	Durchschnitt aus Tagen	g Kreatinin-Tagesmittel	kg Körpergewichtsmittel	mg Kreatinin pro kg Körpergewicht
I. Vorperiode 11.—14. Dez. 01	2	0,4022	31,6	15,9
II. Periode m. Thyreoidinzufuhr 15.—19. Dez.	2	0,4832	32,1	15,0
Dann tägl. 8 Tabl. bis 6. Febr. 02 III. Nachperiode 8.—11. Febr.	2	0,2302	26,25	8,7
Theresia Kr., 14 Jahre				
I. Vorperiode 11.—14. Dez. 01	2	0,4302	22,55	16,9
II. Periode m. Thyreoidinzufuhr 15.—19. Dez.	2	0,4189	22,6	18,5
Dann tägl. 8 Tabl. bis 6. Febr. 02 III. Nachperiode 8.—11. Febr.	2	0,1857	19,45	9,5

Scholz schließt aus den gewonnenen Kreatininzahlen, das

1) l. c.
2) W. Scholz, Ztschr. f. exp. Path. u. Ther. 2, 1905, p. 271—384.

Kreatinin sei „gleich den anderen stickstoffhaltigen Bestandteilen des Harnes im Urin Kretiner vermindert." Wie aber die Berechnung auf das Körperkilogramm lehrt, sind die Werte der Vorperioden und der kurzen Thyreoidinperioden immerhin sehr hoch, namentlich, wenn man die durch Anwendung der Neubauer-Salkowskischen Methode bedingte Verluste berücksichtigt. Besonders auffallend erscheint, wie enorm die Kreatininzahlen nach fast zweimonatigem Gebrauch von Thyreoidintabletten bei beiden Individuen absinken.

Das Verhalten der Kreatininausscheidung bei gesteigerter Funktion der Schilddrüse, wie sie beim Morbus Basedowii in die Erscheinung tritt, ist bisher nicht studiert worden, obgleich sich eine Anzahl Autoren (Daddi, Schreiber und Waldvogel, Magnus-Levy, Kocher, David) mit der Verteilung des Stickstoffs im Harn bei dieser Erkrankung beschäftigt haben.

Eine Ende 1906 in die Klinik aufgenommene Patientin mit Basedowscher Krankheit bot uns Gelegenheit zu monatelangen Untersuchungen des Kreatininstoffwechsels, die darum noch ein erhöhtes Interesse beanspruchen dürfen, weil sie uns gestatten, den Einfluß zweier ausgiebiger Resektionen der Kropfgeschwulst auf die Ausscheidung von Kreatinin zu studieren. Bevor wir jedoch zu diesen Untersuchungen übergehen, sei gestattet, kurz auf eine Angabe von Bubnow[1]) einzugehen, weil auf Grund dieser z. B. Neumeister[2]) in sein Lehrbuch die Notiz übernommen hat, in der Schilddrüse sei „das Kreatinin sogar in bedeutender Quantität vorhanden."

Bubnow (S. 33) enteiweißte eine „große Menge wässerigen Extraktes", der aus vielen „Schilddrüsen" gewonnen war, fällte mit neutralem und basisch essigsaurem Blei, entbleite und dampfte „auf ein kleines Volumen" ein. „Ein geringes Quantum" dieser Flüssigkeit nahm mit NaOH und Nitroprussidnatrium eine intensiv dunkelrote Färbung an, woraus Bubnow auf einen „reichen Gehalt an Kreatinin" schließt. Daß dieser Schluß mangels einer quantitativen Analyse ungerechtfertigt ist, bedarf kaum der Erörterung.

Eigene Erfahrungen über den Gehalt der normalen Schilddrüse an Kreatin und Kreatinin haben wir nicht. Wir untersuchten aber einmal 66,5 g, das andere mal 75,5 g der ganz frischen parenchymatösen Struma unseres Falles auf ihren Gehalt an Kreatin und Kreatinin, indem wir die Gewebsmassen unter Zusatz von geringen Mengen Salzsäure zerkochten und die colorimetrische Bestimmung an dem nur schwach sauren eingedampften Filtrat vornahmen. Im ersten Fall trat überhaupt keine Kreatininreaktion ein, im zweiten Falle eine geringe Spur.

1) Bubnow, Ztschr. f. phys. Chem. 8, 1884, p. 1—47.
2) Neumeister, Lehrb. d. physiol. Chem. Jena 1897, p. 431.

Unser Fall von Morbus Basedowii betraf ein 25jähriges Mädchen, das am 22. November 1905 in die Klinik eintrat.

Die nicht hereditär belastete Patientin litt bereits im Sommer 1905 an Hinfälligkeit, Muskelschmerzen und Herzklopfen, sodaß sie in der Ausübung ihrer Tätigkeit stark behindert wurde. Nach vorübergehender Besserung trat im Februar 1906 eine erhebliche Verschlimmerung des Leidens ein: bei großem Schwächegefühl und ständigem reichlichem Schweiße wurde die Patientin von Tag zu Tag magerer. Durch eine ärztliche Untersuchung wurde sie Anfang Mai auf eine Anschwellung am Halse aufmerksam. Fortan traten auch intermittierend Durchfälle und im Oktober Anschwellung beider Füße bei aufrechter Körperhaltung hinzu. Seit einigen Wochen bestehen auch Husten und Auswurf.

Status praesens am 23. November 1906: Mittelgroßes Mädchen mit stark reduziertem Fettpolster. Skleren und Haut deutlich icterisch. An Unterschenkeln und Füßen ziemlich starke weiche Ödeme. — Große Schilddrüsengeschwulst, die beiderseits bis unter die Mm. sternocleido-mastoidei reicht und eine Breite von 18 cm hat. Gesamtumfang des Halses 35 cm. — Leichter Exophthalmus. Stellwaag'sches und Gräfesches Symptom negativ. — Starker Tremor der gespreizten Finger. — Über allen Teilen der Lungen bronchitische Geräusche ohne Veränderung des Atemgeräuschs. Links hinten unten ein 3 Querfinger hohes pleuritisches Exsudat. — Keine Tuberkelbazillen im Auswurf. — Herzdämpfung relativ und absolut nach rechts und links verbreitet. Spitzenstoß hebend und verbreitert im 5. Intercostalr. 2 Querfinger außerhalb der Mammilla. Über der Herzspitze ein lautes systolisches Geräusch. — Puls gleichmäßig, regelmäßig, klein und von 120—130 Frequenz pr. Min. — Starkes Ohrensausen. — Blutdruck 123 mm Hg. — Augenhintergrund ohne Veränderungen. — Urin enthält minimale Spuren Eiweiß und keinen Zucker. — Stuhlgang breiig, keinen Schleim, keinen Eiter, kein Blut enthaltend. 4—5 Stühle pro Tag. — Abendtemperatur 37,8. — Körpergewicht 46,8 kg.

Wir begannen unsere Stoffwechselversuche am 23. November 06 bei Bettruhe der Patientin und einer im wesentlichen vegetabilischen Diät, der gewöhnlich höchstens 100 g ausgekochten Fleisches und 25 g Kakao zugesetzt wurden. Die Nahrungsmengen sind für jeden Tag in besonderer Rubrik der Tabellen aufgeführt, besondere Zulagen zur Nahrung finden sich neben der Medikation und etwa eingetretenen Veränderungen des klinischen Bildes unter „Bemerkungen“ eingetragen. — Die Tabellen der Perioden, in denen die Körpertemperatur fieberhaft ist, enthalten die entsprechenden Angaben in besonderer Kolonne. — In dem Urine wurden regelmäßig täglich Stickstoff und Kreatinin, mit wenigen Ausnahmen auch die Harnsäure entweder für jeden Tag oder im Mischharn mehrerer Tage und in den letzten Perioden auch die Phosphorsäure bestimmt.

Naturgemäß zerfallen die ganzen bis zum April 1907 hinziehenden Untersuchungen in mehrere Perioden, von denen zeitlich Periode I und II vor der ersten Operation, Periode III und IV vor der zweiten Operation und Periode V nach der zweiten Operation liegen.

Tabelle VII.
Basedow-Periode I (32 Versuchstage).

Datum	Urinmenge	N in g	Urin in g	Kreatinin in g	Körpergewicht	Temp. in °Cels.	Diät	Bemerkungen
8.XI. 06.	1260	7,280	—	0,476	46,8 kg	M.: 37,6 A.: 37,8	Gemischte Kost	Medikation: Calc. phosphor u. Calc. carb. mit Dermatol. Vier weiche Stühle. Oedeme
24.	1560	8,288	—	0,4735	—	M.: 38,2 A.: 37,9	545 Brot, 180 Kartoffel, 110 Butter, 10 g Käse, 5 Eier, 90 ausgek. Fleisch, 1000 Milch	Starke Schweiße 3 weiche Stühle
25.	1950	10,69	—	0,540	—	M.: 38,4 A.: 38,5	230 Brot, 160 Kartoffel, 80 Butter, 4 Eier, 90 Fleisch, 1000 Milch	Starke Schweiße 5 weiche Stühle
26.	1330	11,00	—	0,422	44,0 kg	Mo: 39,2 Mi: 39,5 A: 38,3	350 Brot, 100 Kartoffel, 80 Butter, 10 Käse, 4 Eier, 60 Fleisch, 1000 Milch	Oedeme nehmen ab 3 weiche Stühle
27.	1240	10,528	—	0,533	—	Mo.: 37,3 Mi.: 39,4 A: 38,2	340 Brot, 100 Kartoffel, 100 Butter, 4 Eier, 50 Fleisch, 1000 Milch	3 × 0,5 Tannalbin. 3 weiche Stühle
28.	1450	11,144	—	0,500	—	Mo.: 37,4 Mi.: 39,0 A.: 38,2	360 Brot, 100 Kartoffel, 100 Butter, 30 Käse, 4 Eier, 90 Fleisch, 1000 Milch	3 weiche Stühle
29.	1380	8,933	0,374	0,470	43,2 kg	Mo.: 37,2 Mi.: 38,8 A.: 38,0	345 Brot, 110 Kartoffel, 100 Butter, 4 Eier, 70 Fleisch, 1000 Milch	3 weiche Stühle
30.	1440	9,240	0,635	0,488	—	Mo.: 37,6 Mi.: 38,4 A: 38,0	345 Brot, 170 Kartoffel, 100 Butter, 30 Käse, 70 Fleisch, 4 Eier, 1000 Milch	Oedeme verschwund. 4 weiche Stühle
.XII. 06.	1480	11,368	0,821	0,476	—	Mo.: 38,1 Mi.: 37,6 A.: 37,6	345 Brot, 160 Kartoffel, 100 Butter, 4 Eier, 1000 Milch, 30 Käse	**150 g Thymus** 3 weiche Stühle
2.	1230	9,80	0,746	0,482	—	Temperaturen normal	290 Brot, 150 Kartoffel, 100 Butter, 4 Eier, 70 Fleisch, 1000 Milch	4 weiche Stühle
3.	1360	10,97	0,743	0,488	42,2 kg		405 Brot, 150 Kartoffel, 100 Butter, 80 Fleisch, 1000 Milch	Keine erheblichen Schweiße mehr 4 weiche Stühle
4.	1230	11,256	0,635	0,540	—		390 Brot, 200 Kartoffel, 100 Butter, 20 Käse, 4 Eier, 80 Fleisch, 1000 Milch	4 weiche Stühle

	Urinmenge	N in g	Ū in g	Kreatinin in g	Körpergewicht	Temp. in °Cels.	Diät		Bemerkungen
II.	900	8,288	—	—	—	Normale Temperaturen	400 Brot 150 Kartoffel 100 Butter 30 Käse	80 Fleisch 4 Eier 1000 Milch	Medikation: 3 × 0,5 Jod Kalium bis zum Schluß 3 weiche Stühle
.	1120	10,136	—	0,4384	42,0 kg		490 Brot 150 Kartoffel 100 Butter	4 Eier 1000 Milch 20 Käse	3 weiche Stühle
.	1380	10,864	—	0,492	—		500 Brot 150 Kartoffel 100 Butter 4 Eier	80 Fleisch 20 Käse 1000 Milch	3 weiche Stühle
.	1230	10,528	—	0,469	—		490 Brot 20 Käse 160 Kartoffel 80 Fleisch	4 Eier 150 Butter 1000 Milch	3 weiche Stühle
ι.	1150	9,576	—	0,421	—		570 Brot 150 Butter 150 Kartoffel	4 Eier 1000 Milch 80 Fleisch	Stuhl fester
).	1420	11,704	0,532	0,526	43,0 kg		490 Brot 150 Kartoffel 100 Butter	80 Fleisch 4 Eier 1000 Milch	
.	1590	10,920	0,575	0,444	—		580 Brot 150 Butter	4 Eier 160 Kart.	**130 g Pancreas!**
2.	1680	12,544	0,639	0,5405	—		565 Brot 150 Butter 200 Kartoffel	4 Eier 1000 Milch 90 Fleisch	
3.	1540	14,000	0,5926	0,555	44,5 kg		575 Brot 150 Butter 200 Kartoffel	4 Eier 1000 Milch 90 Fleisch	
4.	1390	12,264	—	0,563	—		590 Brot 150 Butter 200 Kartoffel	4 Eier 1000 Milch 100 Fleisch	Kein Durchfall mehr
5.	1250	12,544	0,574	0,567	—		600 Brot 150 Butter 200 Kartoffel	100 Fleisch 30 Käse 4 Eier 1000 Milch	
6.	1610	13,356	0,700	0,487	—		685 Brot 150 Butter 30 Käse	4 Eier 1000 Milch	**375 g Pancreas!** Tannalbin ausgesetzt
7.	1870	16,464	0,6814	0,588	46,0 kg		570 Brot 150 Butter 200 Kartoffel	100 Fleisch 30 Käse 4 Eier 1000 Milch	
8.	1690	16,828	0,616	0,555	—		550 Brot 100 Butter 150 Fleisch	200 Kart. 4 Eier	
ι.	1940	18,564	0,598	0,615	—		580 Brot 150 Butter 100 Fleisch 200 Kartoffel	20 Käse 4 Eier 1000 Milch	

9*

Versuchstag	Datum	Urinmenge	N in g	Ū in g	Kreatinin in g	Körpergewicht	Temp. in °Cels.	Diät	Bemerkungen
28.	20. XII.	1880	16,856	0,582	0,645	47,3 kg	Normale Temperatur	700 Brot 200 Kart. 150 Butter 30 Käse 100 Fleisch 4 Eier 1000 Milch	
29.	21.	2140	16,755	0,7282	0,9362	—	M.: 36,8 A.: 37,8	680 Brot 100 Fleisch 150 Butter 4 Eier 200 Kartoffel 1000 Milch	10 g Liebigs Fleisch-Extrakt
30.	22.	1840	15,288	0,746	1,096	—	M.: 36,8 A.: 37,7	690 Brot 30 Käse 150 Butter 4 Eier 200 Kartoffel 75 Kuchen 100 Fleisch 1000 Milch	20 g Liebigs Fleisch-Extrakt
31.	23.	1960	15,792	0,691	0,7143	—	M.: 36,7 A.: 38,0	680 Brot 4 Eier 150 Butter 1000 Milch 100 Fleisch 200 Kart.	
32.	24.	1770	15,9	0,541	0,615	49,0 kg	M.: 36,8 A.: 37,8	700 Brot 1000 Milch 150 Butter 200 Kart. 150 Fleisch 4 Eier	

Tabelle VIII.

Basedow-Periode II (4 Versuchstage).

Versuchstag	Datum	Urinmenge	N in g	Kreatinin in g	Diät	Bemerkungen
1.	10. I. 07.	1630	16,24	0,6155	Gemischt	Keine Oedeme. Körpergew. 49 kg. Temperatur normal. 3 × 0,5 JK. bis zu Ende.
2.	11.	1800	18,20	0,7408	660 Brot 4 Eier 150 Butter 200 Kart. 100 Fleisch (ausgekocht) 1000 Milch	
3.	12.	1870	17,864	0,6897	680 Brot 150 Butter 200 Kart. 100 Fleisch 4 Eier 1000 Milch	
4.	13.	2030	19,162	—	Gleiche Diät	

Zur Beurteilung der absoluten Größe der Kreatininausscheidung beim vollentwickelten Bild der Basedowschen Krankheit seien in der folgenden kleinen Übersicht (Tabelle 9) aus den Tabellen von den Perioden I und II nur diejenigen Tage entnommen, an denen das Körpergewicht der Kranken bestimmt wurde, und die Kreatininausscheidung nicht unter dem Einfluß der Pankreas-, Thymus- und Liebig-Extrakt-Zufuhr steht und namentlich auch das zugehörige Körpergewicht nicht durch vorhandene Oedeme erhöht ist.

Tabelle IX.

	Versuchs-tag No.	Kreatinin g pro Tag	Körper-gewicht kg	mg Kreatinin pro kg Körpergewicht
Periode I	7.	0,470	43,2	10,9 (Noch unter Fieberwirkung)
	14.	0,438	42,0	10,4
	18.	0,526	43,0	12,2
	21.	0,555	44,5	12,5
	28.	0,645	47,3	13,6
	32.	0,615	49,0	12,6
Periode II	1.	0,616	49,0	12,6
Durchschnitt:		0,552	45,43	12,1

Diese Übersicht ergibt bei einem Durchschnittskörpergewicht von 45,43 kg im Mittel einen Kreatinintagesbetrag von 0,552 g, also pro kg Körpergewicht 12,1 mg Kreatinin. Dieser Wert muß als niedrig bezeichnet werden. Gleichzeitig ist die in Tabelle 9 aufgeführte Reihe insofern interessant, als sie zeigt, wie die Kreatininmenge entsprechend dem rapiden Ansatz an Körpersubstanz ansteigt.

Ein gewisser Parallelismus mit der Stickstoffausscheidung ist wohl dadurch bedingt, daß zu Ende der beiden ersten Perioden mit dem Aufhören der Durchfälle (ab Versuchstag 22, Periode I) und dem Anwachsen des Appetits die Menge des Gesamtstickstoffes zunimmt.

In der Periode I verfütterten wir am Versuchstag 9 150 g Thymus, um zu entscheiden, ob die Zufuhr dieses nucleinreichen Materials die Kreatininausscheidung steigert. Während die Patientin auf diese Nahrung mit einer Harnsäuresteigerung von 29,3 Proz. (von 0,635 g auf 0,821 g Ū) antwortete, und die Harnsäureausscheidung auch noch an den 2 Nachtagen (Versuchstage 10 und 11) vermehrt blieb, schwankte die Kreatininausscheidung nur innerhalb sehr enger Grenzen.

Namentlich im Hinblick auf den Guaninreichtum des Pankreasnucleoproteide sind am Versuchstag 19, 130 g, am Versuchstag 24, 375 g Pankreas der Nahrung zugelegt mit dem Resultat, daß auch daraufhin jede Steigerung der Kreatininausscheidung ausbleibt. Auf die Bedeutung der Liebigextrakt-Verfütterung kommen wir am Schluß im Zusammenhang zurück.

Unmittelbar nach Beendigung der Periode II am 14. Januar 07 wurde die Kranke in die chir. Klinik von Herrn Geheimrat Friedrich einer Operation unterzogen, die in einer Resektion eines Strumateiles von 130 g Gewicht bestand. Das resezierte Stück bot makroskopisch und mikroskopisch das Bild einer parenchymatösen Struma.

Am 25. Januar 07, also 11 Tage nach der Operation nahmen wir unsere Versuche wieder auf. Die folgenden Tabellen bringen die Resultate der beiden postoperativen Perioden III und IV.

Tabelle X.

Periode III (9 Versuchstage).

Versuchstag	Datum	Urinmenge	N in g	Ū in g	Kreatinin in g	P_2O_5 in g	Körpergewicht	Diät	Bemerkungen
1.	25. I. 07.	1460	12,32	—	0,555	—	53,5 kg	510 Brot 150 Butter 150 Kartoffel 1000 Milch 100 Fleisch (ausgekocht) 4 Eier 20 Kakao	Temp. normal Keine Medikation
2.	26.	1250	10,75	—	0,520	2,76 i. D.	—	490 Brot 1000 Milch 150 Butter 20 Kakao 100 Fleisch 4 Eier	
3.	27.	1730	16,58	—	0,660	3,26	—	520 Brot 150 Kartoffel 100 Fleisch 1000 Milch 150 Butter 20 Kakao 4 Eier	
4.	28.	1850	14,56		0,930	3,86	53,2	500 Brot 120 Kartoffel 150 Butter 4 Eier 100 Fleisch 1000 Milch	Liebigs Fleisch-Extrakt 10 g
5.	29.	1370	14,46	0,67 i. D.	0,964	4,22	—	380 Brot 120 Kartoffel 150 Butter 100 Fleisch 4 Eier 15 Kakao 1000 Milch	Liebigs Fleisch-Extrakt 20 g
6.	30.	1200	14,22		0,8603	3,56	—	420 Brot 100 Butter 100 Fleisch 4 Eier 1000 Milch 20 Kakao 100 Kartoffel	Liebigs Fleisch-Extrakt 30 g
7.	31.	1420	16,18		0,667	3,34	52,5	400 Brot 110 Butter 100 Fleisch 1000 Milch 20 Kakao 120 Kartoffel 4 Eier	
8.	1. II. 07.	1420	15,12	0,68 i. D.	0,640	3,06	—	380 Brot 1000 Milch 100 Butter 20 Kakao 100 Fleisch 4 Eier	
9.	2.	1420	15,49		0,606	3,86	—	400 Brot 20 Kakao 110 Butter 100 Fleisch 4 Eier 1000 Milch	

Tabelle XI.

Periode IV (7 Versuchstage).

Versuchstag	Datum	Urinmenge	N in g	Ū in g	Kreatinin in g	P_2O_5 in g	Körpergewicht	Diät	Bemerkungen
1.	24. II. 07.	1000	7,98	—	0,421	1,92	—	410 Brot 750 Milch 100 Butter 2 Apfelsinen 4 Eier 25 Kakao 100 unausgek. Fleisch	Temperatur normal. Keine Medikation. Kein Durchfall.

Datum	Urin-menge	N in g	Ū in g	Kreatinin in g	P_2O_5 in g	Körper-gewicht	Diät	Bemerkungen
25. II. 07.	1340	10,75	0,556 i. D.	0,556	2,32	49,3 kg	450 Brot 2 Apfelsinen 100 Butter 750 Milch 4 Eier 25 Kakao 100 ausgekocht. Fleisch	
26.	1440	11,93		0,556	2,73	—	430 Brot 4 Eier 100 Butter 1000 Milch 100 Fleisch 25 Kakao	Liebigs Fleisch-Extrakt 25 g
27.	1380	11,03	0,616	0,785	3,00	—	440 Brot 4 Eier 100 Butter 1000 Milch 50 Fleisch 25 Kakao	
28.	1290	12,04	0,672	0,588	3,34	49,0 kg	430 Brot 4 Eier 100 Butter 1000 Milch 50 Fleisch 25 Kakao	
1. III. 07.	1250	10,64	0,662	0,556	2,80	—	430 Brot 4 Eier 100 Butter 1000 Milch 50 Fleisch 25 Kakao	
2.	1250	11,59		0,556	2,77	—	450 Brot 4 Eier 100 Butter 1000 Milch 50 Fleisch 25 Kakao	

Bei der Berechnung der absoluten Werte des ausgeschiedenen Kreatinins für Periode III und IV verfuhren wir nach demselben Prinzip wie in den Voroperationsperioden. Demgemäß wurden für Periode III die Versuchstage 1—3 und die Versuchstage 8 und 9 berücksichtigt, für die sich die Durchschnittsziffer 0,596 g Kreatinin pro Tag auf 53,1 kg Körpergewicht, mithin 11,2 mg pro kg Körpergewicht berechnet. Aus Periode IV kamen ebenfalls 5 Versuchstage, nämlich 1.—3., sowie 6. und 7. für die Aufstellung der Durchschnittswerte in Betracht. Bei 49,2 kg wurden im Mittel 0,529 g Kreatinin, also 10,7 mg pro kg Körpergewicht eliminiert.

Bemerkenswert ist, daß die Patientin nach der 1. Operation wieder etwas an Körpergewicht verlor. Ihr Allgemeinbefinden und Aussehen war das gleiche, wie vorher, die Pulsfrequenz blieb nach wie vor über 120 pro Minute.

Am 11. März 07 wurden durch eine 2. Operation noch 82 g Struma entfernt, und die Patientin verblieb zur Nachbehandlung noch 4 Wochen in der chirurgischen Klinik (Privatdocent Dr. Sauerbruch). Leider verliert unsere Untersuchungsreihe in Periode V dadurch an Wert, daß in dieser Zeit (vom 12. März bis 8. April 07) die Patientin im ganzen 30 Thyreoidintabletten (Burroughs, Wellcome & Comp.) gereicht werden mußten, weil man nach ihrem gedunsenen Aussehen das Eintreten einer „Hypothyreosis" befürchtete.

Tabelle XII.
Periode V (8 Versuchstage).

Versuchstag	Datum	Urin-menge	N in g	Ū in g	Kreatinin in g	P_2O_5 in g	Körper-gewicht	Diät		Bemerkungen
1.	9. IV. 07.	1040	11,48		—	2,45	56,0 kg	Gemischte Diät		Temperatur normal. Keine Medikation. Kein Durchfall.
2.	10.	1325	13,33	0,735 i. D.	0,741	2,43	—	690 Brot 150 Butter 150 Kartoffel 100 Fleisch	1000 Milch 4 Eier 50 Zucker 25 Kakao	
3.	11.	1230	13,27		0,714	2,60	56,5 kg	618 Brot 160 Butter 155 Kartoffel 1000 Milch	4 Eier 60 Zucker 25 Kakao	
4.	12.	1000	11,90		0,656	2,38	—	660 Brot 4 Eier 30 Zucker 150 Butter 150 Kartoffel 4 Eier	15 Käse 25 Kakao 1000 Milch	
5.	13.	1390	14,39	0,899	1,127	2,98	57,3 kg	680 Brot 150 Kartoffel 150 Butter 25 Kakao 50 Zucker	4 Eier 100 Fleisch 1000 Milch 20 Käse	Liebigs Fleisch-Extrakt 25 g
6.	14.	1040	14,64		0,817	2,92	—	652 Brot 50 Zucker 150 Kartoffel 150 Butter	4 Eier 100 Fleisch 20 Kakao 2000 Milch	
7.	15.	920	13,66	0,8075 i. D.	—	2,73	58,4 kg	705 Brot 150 Butter 150 Kartoffel 100 Fleisch	50 Zucker 20 Kakao 1000 Milch	
8.	16.	980	14,14		—	2,80	—	745 Brot 17 Käse 11 Kakao 50 Zucker 150 Butter	4 Eier 100 Fleisch 1000 Milch 150 Kart.	

Unsere Untersuchungen (Periode V) setzen mit dem 9. April, also am Tage nach der letzten Schilddrüsenmedikation, wieder ein. Innerhalb dieser Periode stieg das Körpergewicht der Patientin von 56,0 kg auf 58,4 und zeigte auch über die Periode V hinaus weiter eine steigende Tendenz, so daß am 3. Mai das Gewicht 63,4 kg erreicht war. Die Harnmenge sinkt bei gleicher Flüssigkeitszunahme wie in den früheren Perioden (cf. Tab. 13). Die Zunahme des Körpergewichts ist daher wahrscheinlich teilweise durch Wasserretention hervorgerufen. Die Patientin hatte ein gelblichblasses Hautkolorit angenommen und im Gesichte trat ein gedunsenes Aussehen hervor, das lebhaft gegen die vorher bestehende mimische Lebhaftigkeit abstach.

Für die Berechnung des Kreatinintagesmittels kommen aus der Periode V nur die Tage 2, 3 und 4 in Betracht: das Körpergewicht zu 56,5 kg angenommen, beträgt die Kreatininausscheidung im Durchschnitt 0,713 g, also 12,7 mg pro kg Körpergewicht.

Wir schicken der Diskussion unserer gesamten Versuchsresultate folgende kurze Zusammenstellung voran.

Tabelle XIII.

	Harnmenge im Durchschnitt	mg Kreatinin pro kg Körpergewicht
Periode I und Periode II	1670 ccm	12,1
I. Operation		
Periode III und Periode IV	1367 ccm	11,0
II. Operation		
Periode V	1118 ccm	12,7

Sie gestattet uns den Schluß, daß in unserem Falle von Morbus Basedowii die Kreatininausscheidung gegen die Norm vermindert erscheint.

Ein Rückblick auf Tabelle 6 lehrt, daß Scholz[1]) bei seinen Kretinen, also für einen Zustand von „Hypothyreosis" im ganzen ziemlich hohe Werte fand, die nach Thyreoidinzufuhr erheblich absanken. Nach diesen Tatsachen wäre die Möglichkeit nicht von der Hand zu weisen, daß der Grad der Schilddrüsenfunktion von Bedeutung für den Kreatininstoffwechsel ist, und eine solche Hypothese wäre umso verlockender, als Gottlieb und Stangassinger[2]) jüngst gefunden haben, daß ein Fermentpulver aus der Schilddrüse des strumakranken Hundes „stark kreatinzerstörend" wirkt und auch unsere weiter unten folgenden Versuche mit Zufuhr von Liebigs Fleischextrakt für eine stärkere Kreatininzerstörung zu sprechen scheinen. Folgerichtig müßte dann aber von so ausgedehnten Resektionen, wie sie in unserem Falle ausgeführt wurden, eine Steigerung der Kreatininausscheidung zu erwarten sein. Aus dem Aussehen der Patientin nach der 2. Operation, dem Absinken der Urinmengen, der Verlangsamung des Pulses können wir den Schluß ziehen, daß der Zustand der Hyperthyreosis durch die 2. Resektion in einen solchen der Hypothyreosis übergeführt wurde. Dem entspricht aber keineswegs das Ansteigen des Kreatininwertes mit dem geringen Betrag von 1,7 mg pro Körperkilogramm. Mag sein, daß die Thyreoidinmedikation das Ansteigen der Ausscheidung

1) Scholz, l. c.
2) Ztschr. f. phys. Chem. 52, 1907, p. 1—41.

Tabelle XII.
Periode V (8 Versuchstage).

Versuchstag	Datum	Urinmenge	N in g	Ū in g	Kreatinin in g	P_2O_5 in g	Körpergewicht	Diät	Bemerkungen
1.	9. IV. 07.	1040	11,48		—	2,45	56,0 kg	Gemischte Diät	Temperatur normal. Keine Medikation. Kein Durchfall.
2.	10.	1325	13,33		0,741	2,43	—	690 Brot, 1000 Milch 150 Butter, 4 Eier 150 Kartoffel, 50 Zucker 100 Fleisch, 25 Kakao	
3.	11.	1230	13,27	0,735 i. D.	0,714	2,60	56,5 kg	618 Brot 160 Butter 155 Kartoffel 1000 Milch 4 Eier 60 Zucker 25 Kakao	
4.	12.	1000	11,90		0,656	2,38	—	660 Brot 4 Eier 30 Zucker 150 Butter, 15 Käse 150 Kartoffel, 25 Kakao 4 Eier, 1000 Milch	
5.	13.	1390	14,39	0,899	1,127	2,98	57,3 kg	680 Brot 150 Kartoffel 150 Butter 25 Kakao 50 Zucker 4 Eier 100 Fleisch 1000 Milch 20 Käse	Liebigs Fleisch Extrakt 25 g
6.	14.	1040	14,64		0,817	2,92	—	652 Brot, 4 Eier 50 Zucker, 100 Fleisch 150 Kartoffel, 20 Kakao 150 Butter, 2000 Milch	
7.	15.	920	13,66	0,8075 i. D.	—	2,73	58,4 kg	705 Brot 150 Butter 150 Kartoffel 100 Fleisch 50 Zucker 20 Kakao 1000 Milch	
8.	16.	980	14,14		—	2,80	—	745 Brot 17 Käse 11 Kakao 50 Zucker 150 Butter 4 Eier 100 Fleisch 1000 Milch 150 Kart.	

Unsere Untersuchungen (Periode V) setzen mit dem 9. April, also am Tage nach der letzten Schilddrüsenmedikation, wieder ein. Innerhalb dieser Periode stieg das Körpergewicht der Patientin von 56,0 kg auf 58,4 und zeigte auch über die Periode V hinaus weiter eine steigende Tendenz, so daß am 3. Mai das Gewicht 63,4 kg erreicht war. Die Harnmenge sinkt bei gleicher Flüssigkeitszunahme wie in den früheren Perioden (cf. Tab. 13). Die Zunahme des Körpergewichts ist daher wahrscheinlich teilweise durch Wasserretention hervorgerufen. Die Patientin hatte ein gelblichblasses Hautkolorit angenommen und im Gesichte trat ein gedunsenes Aussehen hervor, das lebhaft gegen die vorher bestehende mimische Lebhaftigkeit abstach.

Für die Berechnung des Kreatinintagesmittels kommen aus der Periode V nur die Tage 2, 3 und 4 in Betracht: das Körpergewicht zu 56,5 kg angenommen, beträgt die Kreatininausscheidung im Durchschnitt 0,713 g, also 12,7 mg pro kg Körpergewicht.

Wir schicken der Diskussion unserer gesamten Versuchsresultate folgende kurze Zusammenstellung voran.

Tabelle XIII.

	Harnmenge im Durchschnitt	mg Kreatinin pro kg Körpergewicht
Periode I und Periode II	1670 ccm	12,1
I. Operation		
Periode III und Periode IV	1367 ccm	11,0
II. Operation		
Periode V	1118 ccm	12,7

Sie gestattet uns den Schluß, daß in unserem Falle von Morbus Basedowii die Kreatininausscheidung gegen die Norm vermindert erscheint.

Ein Rückblick auf Tabelle 6 lehrt, daß Scholz[1]) bei seinen Kretinen, also für einen Zustand von „Hypothyreosis" im ganzen ziemlich hohe Werte fand, die nach Thyreoidinzufuhr erheblich absanken. Nach diesen Tatsachen wäre die Möglichkeit nicht von der Hand zu weisen, daß der Grad der Schilddrüsenfunktion von Bedeutung für den Kreatininstoffwechsel ist, und eine solche Hypothese wäre umso verlockender, als Gottlieb und Stangassinger[2]) jüngst gefunden haben, daß ein Fermentpulver aus der Schilddrüse des strumakranken Hundes „stark kreatinzerstörend" wirkt und auch unsere weiter unten folgenden Versuche mit Zufuhr von Liebigs Fleischextrakt für eine stärkere Kreatininzerstörung zu sprechen scheinen. Folgerichtig müßte dann aber von so ausgedehnten Resektionen, wie sie in unserem Falle ausgeführt wurden, eine Steigerung der Kreatininausscheidung zu erwarten sein. Aus dem Aussehen der Patientin nach der 2. Operation, dem Absinken der Urinmengen, der Verlangsamung des Pulses können wir den Schluß ziehen, daß der Zustand der Hyperthyreosis durch die 2. Resektion in einen solchen der Hypothyreosis übergeführt wurde. Dem entspricht aber keineswegs das Ansteigen des Kreatininwertes mit dem geringen Betrag von 1,7 mg pro Körperkilogramm. Mag sein, daß die Thyreoidinmedikation das Ansteigen der Ausscheidung

1) Scholz, l. c.
2) Ztschr. f. phys. Chem. 52, 1907, p. 1—41.

verhindert hat und dazu die Wasserretention die Beziehungszahl des Kreatinins zum Körpergewicht herunterdrückt[1]).

Die Tatsache, daß im lebenden Organismus Kreatinkörperbildung und -zerstörung gleichzeitig nebeneinander verlaufende Prozesse sind, erschwert es außerordentlich, festzustellen, ob in einer Krankheit die Kreatinkörperbildung oder -zerstörung verändert ist. Es ist unmöglich, die Größe der Kreatinkörperbildung zu bestimmen, wenn man nicht die der Kreatinkörperzersetzung kennt. Die letztere scheint uns wenigstens mit einiger Annäherung der experimentellen Erforschung zugänglich.

Nehmen wir als Kreatinbildungsstätte den Muskel an, so lehren die Versuche am überlebenden Katzenherzen (cf. die vorangehende Mitteilung), daß bei der Arbeit Kreatinkörper aus dem Muskelgewebe entfernt, und wenn überhaupt, dann jedenfalls nicht im Muskel selbst zersetzt werden. Andererseits zeigen die Versuche von Gottlieb und Stangassinger, daß auch im Muskel selbst eine, wenn auch nicht sehr energische fermentative Kreatinzerstörung statt hat. Wie man diese letztere am lebenden Menschen studieren konnte, ist schwer zu sagen. Dagegen kann man für die Oxydationsgröße des „zirkulierenden" Kreatins bez. Kreatinins wohl dadurch Anhaltspunkte gewinnen, daß man diese zirkulierende Menge um eine bekannte Größe vermehrt und deren Wiedererscheinen im Harn untersucht. Praktisch kann man den Versuch durch Verfüttern des basenreichen Fleischextraktes ausführen.

Wir wollen noch kurz den bereits in der vorangehenden Mitteilung berichteten Versuchsergebnissen mit Fleischextraktfütterung am Hunde und normalen Menschen die Resultate bei unseren Kranken vergleichend gegenüberstellen.

In den Versuchsprotokollen ist bereits erwähnt, an welchen Tagen die betr. Beobachtung des Fleischextraktversuchs gemacht ist. In allen Fällen entstammt der Liebigsche Fleischextrakt ein und derselben Büchse. Wir geben in der folgenden Tabelle XIV (s. n. S.) nur die Übersicht über die Ergebnisse, die sich speziell auf das Kreatinin beziehen.

Nehmen wir die Kreatininvermehrung, die beim gesunden Manne nach der Einnahme von 30 gr Fleischextrakt auftritt, als Standard-

1) Pfeiffer und Scholz (Arch. f. klin. Med. 63, 1899, p. 412) fanden im Senium und bei Paralysis agitans sogar eine ganz unbedeutende Vermehrung des Kreatinins nach 3- resp. 5tägiger Zufuhr von Thyreoidintabletten. Auf diese Zahlen ist aber bei der kurzen Dauer der Schilddrüsenzufuhr kein besonderes Gewicht zu legen.

Tabelle XIV.

	Fleischextraktmenge gr	Harnkreatininmenge gr	Kreatininvermehrung	Kreatininvermehrung pro 30 gr Fleischextrakt
Normaler Mann				
Mittel der 2 Vortage		1,290		
Versuchstag	25,0	2,000	0,710	
Nachtag		1,482	0,192	1,082
Fall von Muskelatrophie				
Mittel der 3 Vortage		0,889		
Versuchstag	25,0	1,600	0,711	
Nachtag		0,860		0,852
Fall von Leukämie				
Mittel der 3 Vortage		0,658		
Versuchstag	25,0	0,975	0,317	
2 Nachtage		1,483	0,167	0,577
Fall von Morbus Basedowii				
Periode I. Vor der Operation				
Mittel der 3 Vortage		0,599		
2 Versuchstage	30,0	1,474	0,276	
Nachtag		0,691	0,092	0,368
Periode III. Nach der ersten Operation				
Mittel der 3 Vortage		0,578		
3 Versuchstage	60,0	2,754	1,020	
3 Nachtage		1,913	0,179	0,600
Periode IV. Vor der zweiten Operation				
Mittel der 3 Vortage		0,511		
Versuchstag	25,0	0,785	0,274	
Nachtag		0,588	0,077	0,421
Periode V. Nach der zweiten Operation				
Mittel der 3 Vortage		0,701		
Versuchstag	25,0	1,127	0,426	
Nachtag		0,817	0,116	0,650

wert, so zeigt sich in dem Falle von Muskelatrophie eine etwas geringere Ausscheidung. Diese Verminderung scheint uns nicht von erheblicher Bedeutung. Die Steigerung am Versuchstage ist hier genau so groß wie beim normalen Menschen. Es fehlt bloß die Steigerung des Nachtages. Also im wesentlichen war bei dieser Muskelatrophie die Zersetzung des Kreatinins die normale.

Auffallend geringer als beim normalen Menschen ist die Kreatininvermehrung in dem zweiten Falle von Leukämie. Vom Kreatinin des genossenen Eleischextraktes erscheint etwas mehr als halb so viel wieder als beim normalen Menschen. Da kein Grund für die Annahme vorliegt, daß die Resorption des Fleischextraktes verschlechtert sei, so kann man annehmen, daß bei dieser Leukämie die Zersetzung des im Körper zirkulierenden Kreatinins größer als normal ist.

Am interessantesten sind die Beobachtungen beim Falle von Morbus Basedowii. Hier ist in 4 Perioden die Kreatininvermehrung unter dem Einflusse von Fleischextrakt untersucht. Stets fiel diese Vermehrung abnorm klein aus. Unter einander zeigen dei einzelnen Versuche bemerkenswerte Unterschiede. In Periode I, der unbeeinflußten „Hyperthyreosis" ist die Vermehrung am kleinsten. Bald nach der ersten Operation, in Periode III, erscheint viel mehr vom verfütterten Kreatinin im Harn wieder. Nach einiger Zeit, kurz vor der Operation 2, in Periode IV, ist die Zunahme wieder geringer und endlich in Periode V, als Patientin sich im Zustande der Hypothyreosis befindet, ist die Kreatininvermehrung nach Fleischextraktaufnahme am größten. Unter Bezugnahme auf die oben ausgesprochene Vermutung über die Rolle der Schilddrüse im Kreatinkörperstoffwechsel könnte man diese Befunde so deuten: Die erste Resektion der Struma führte bereits vorübergehend zu einer Verminderung edogenen Kreatinins, die zweite hatte den gleichen Effekt in noch größerem Umfange.

Die weitere Aufklärung dieser Vermutung müssen experimentelle Untersuchungen geben, über deren Resultate später Mitteilung gemacht werden soll.

VI.

Aus der medizinischen Klinik in Heidelberg. Prof. Dr. Krehl.

Zur Kenntnis der Entstehung des Fibrinogens.

Von

Dr. P. Morawitz und Dr. E. Rehn.

Nach einem Vortrage, gehalten auf der 79. Versammlung Deutscher Naturforscher und Ärzte in Dresden.

I. Einleitung.

Während man durch zahlreiche Arbeiten der letzten Jahrzehnte über die Entstehung der geformten Elemente des Blutes verhältnismäßig gut unterrichtet ist, weiß man bisher noch fast nichts über Genese und Funktion der Eiweißkörper des Blutplasma. Histologische Untersuchungsmethoden sind bisher zur Lösung dieser Fragen noch nicht herangezogen worden, aber auch die chemische Untersuchung hat eindeutige und klare Resultate bis jetzt nicht ergeben. Durch die Arbeiten von Wallerstein (1), Lewinski (2) und Githens (3) ist allerdings festgestellt worden, daß im Hunger eine gewisse Vermehrung des Globulinanteiles der Bluteiweißkörper stattfindet und daß, wie Inagaki (4) fand, nach Aderlassen meistens eine ziemlich erhebliche Zunahme der Globuline erfolgt. Ob aber Albumine und Globuline nur in bestimmten Organen gebildet werden, oder ob alle Parenchyme an ihrer Bildung beteiligt sind, ist noch ebenso unbekannt, wie die physiologische Bedeutung dieser Körper.

Etwas besser ist man über das Fibrinogen, die Muttersubstanz des Fibrins, unterrichtet. Das liegt wohl vornehmlich daran, daß das Fibrinogen durch seinen Übergang in Fibrin sehr leicht zu charakterisieren ist, und man schon seit Anfang des vergangenen Jahrhunderts daran gewöhnt ist, auf Vermehrung oder Verminderung der Fibrinmenge (Hyperinose und Hypinose) bei Krankheiten zu achten. Besonders aus den letzten Jahren rühren zahlreiche Arbeiten her, die den Ursprungsort des Fibrinogens aufzuklären suchen.

Doyon (5) und seine Mitarbeiter haben in sehr zahlreichen Mitteilungen die Bedeutung der Leber für den Fibrinogengehalt des Blutes bewiesen. Schon aus den Untersuchungen von Corin und Ansiaux (6) und Jakoby (7) geht hervor, daß im Verlauf einer experimentellen Phosphorvergiftung das Fibrinogen aus dem Blute verschwindet, das Blut also völlig ungerinnbar wird. Doyon hat nun zeigen können, daß auch einige andere Vergiftungen, die zu starken Degenerationen des Leberparenchyms führen, ein Verschwinden des Fibrinogens veranlassen, wie z. B. die Chloroformvergiftung. Ebenso gelingt es auch durch hepatotoxische Sera (8), Leberexstirpation und durch die Ecksche Fistel das Blut ungerinnbar zu machen. Diese Ungerinnbarkeit beruht auf einem Verschwinden des Fibrinogens. Endlich gibt Doyon noch an, daß es ihm gelungen sei, durch Extraktion der Leber mit Kochsalzlösung einen Eiweißkörper zu erhalten, der in seinen wesentlichen Eigenschaften sich wie Fibrinogen verhält. Diese Angabe ist allerdings inzwischen von Pohl (9) zurückgewiesen worden.

Zu ganz ähnlichen Schlüssen über die Entstehungsorte des Fibrinogens führen auch die Untersuchungen von Nolf (10). Nolf hat in der Lebervene mehr Fibrinogen gefunden wie in der Pfortader und gibt auch an, bei künstlicher Durchblutung der Leber eine Bildung von Fibrinogen beobachtet zu haben.

Man sollte annehmen, daß diese Versuche die Frage nach der Herkunft des Fibrinogens in einwandfreier Weise dahin entscheiden, daß die Leber die wichtigste oder auch einzige Bildungsstätte dieses Eiweißkörpers sei. Es lassen sich aber die Resultate von Doyon und Nolf auch in anderer Weise zum größten Teil erklären, worauf übrigens auch Nolf aufmerksam macht: Jakoby (7), Loeb (11) und andere haben nämlich gefunden, daß im Verlaufe der Phosphorvergiftung eine starke Fibrinolyse eintritt, d. h. das Fibrin und Fibrinogen wird durch die Fähigkeit eines normalerweise nicht nachweisbaren Fermentes abgebaut und in andere Körper übergeführt, die nicht mehr die Tätigkeit haben, bei der Gerinnung in Fibrin überzugehen. Man kann die Existenz dieses Fermentes sehr leicht dadurch nachweisen, daß man einige Cubikcentimeter Blut des phosphorvergifteten Tieres zu einer geronnenen Blutprobe eines normalen Tieres gibt. Im Brutschrank kann dann sehr bald eine Verflüssigung des schon vorhandenen Gerinnsels eintreten.

Es geht also daraus hervor, daß man sich den Zusammenhang zwischen Leberschädigung und Fibrinogenschwund auch so denken kann, daß die normale Funktion der Leber den beschleunigten Ab-

bau des Fibrinogens verhinderte, indem die Leber etwa auf irgend eine Weise die Wirksamkeit des fibrinolytischen Fermentes paralysiert.

In der Tat sprechen nun eine Reihe von Beobachtungen aus neuerer Zeit nicht für die Entstehung des Fibrinogens in der Leber. Von älteren Arbeiten, so z. B. den Untersuchungen von Dastre (12) und Mathews (13) soll hier gänzlich abgesehen werden, weil die Methodik der Fibrinogenbestimmung damals noch recht unvollkommen war. Dagegen weisen einige neuere Arbeiten auf einen gewissen Zusammenhang zwischen Leukocytose und Fibrinogenvermehrung hin.

Im Anschluß an die alten klassischen Untersuchungen von Andral und Gavarret und Bequerel und Rodier hat Pfeiffer (14) gefunden, daß im allgemeinen die mit Leukocytose einhergehenden Krankheiten, wie z. B. die Pneumonie, Eiterungen verschiedener Art usw. auch von einer Vermehrung des Fibrinogens begleitet sind, während diese bei Typhus und anderen ohne Leukocytose verlaufenden Krankheiten vermisst wird. Allerdings geht Pfeiffer in seinen Schlußfolgerungen nicht so weit wie Mathews, der angibt, daß die Menge des Fibrinogens direkt dem Leukocytenzerfall proportional ist. Ausdrücklich macht Pfeiffer vielmehr darauf aufmerksam, daß ein Parallelismus in diesem Sinne sich keineswegs immer nachweisen läßt und speziell bei der Leukämie vermißt wird. Ähnliche Beobachtungen konnten auch Langstein und Mayer (15) bei Versuchen an Kaninchen erheben, die mit Pneumokokken und anderen Mikroorganismen infiziert worden waren. Auch hier konnte zugleich mit einer Leukocytose eine Vermehrung des Fibrinogens festgestellt werden. Noch wahrscheinlicher gestaltet sich der Zusammenhang zwischen Leukocytose und Fibrinogenvermehrung durch die schönen Untersuchungen von P. Th. Müller (16), der bei infizierten Kaninchen quantitative Fibrinogenbestimmungen in Blut und Knochenmark ausführte. Wenn er den Fibrinogengehalt des Knochenmarkes auf den colorimetrisch ermittelten Blutgehalt dieses Organes bezog, fand er im Knochenmark häufig erheblich mehr Fibrinogen als im Blute und ist deswegen geneigt, im Knochenmark und vielleicht auch in den anderen blutbildenden Organen eine wichtige Bildungsstätte des Fibrinogens zu sehen. Diese Ansicht würde sich sehr gut mit den Untersuchungen von Pfeiffer und Langstein und Mayer vereinigen lassen. Sie steht aber im Widerspruch mit den oben erwähnten neueren Untersuchungen der französischen Forscher.

In Anbetracht dieser nicht völlig geklärten Sachlage erscheint es daher wünschenswert, mit anderen als chemischen Methoden einen Beitrag zur Lösung dieses Problems zu liefern, speziell durch genaue histologische Untersuchung eines Tieres, das sich im Zustande starker Fibrinogenbildung befindet. Soviel wir sehen können, sind solche Untersuchungen bisher überhaupt nicht angestellt worden und auch in einwandfreier Form nicht möglich gewesen vor Ausbildung der Methoden, die auch im Schnitt eine genaue Analyse der Zellen in den blutbildenden Organen gestatten. Wir sind weit entfernt, die Resultate der im folgenden mitgeteilten Untersuchungen zu überschätzen und möchten ausdrücklich betonen, daß wir ihnen nur deswegen Bedeutung beizulegen geneigt sind, weil sie eine Ergänzung der mit chemischen Untersuchungsmethoden erlangten Befunde zu bilden scheinen.

Nach Maßgabe der in der Einleitung dargelegten Auffassungen über die Entstehung des Fibrinogens hatten wir unser Augenmerk vornehmlich auf die Leber und die blutbildenden Organe zu richten.

II. Methodisches.

Die Versuche wurden an Kaninchen angestellt. Hunde sind deswegen wenig geeignet, weil die Färbung der neutrophilen Granula der Myelocyten und Polymorphkernigen im Schnitt außerordentlichen Schwierigkeiten begegnet und mit den heutigen Methoden fast unmöglich ist. Auch im Ausstrich lassen sich, wie ja auch Tallquist (17) hervorhebt, in vielen Polymorphkernigen mit Triacid keine neutrophilen Granula darstellen. Aus diesen Gründen wurde nur ein Versuch am Hunde ausgeführt.

Um bei den Versuchstieren eine starke Fibrigenbildung anzuregen, bedienten wir uns einer schon von Bizzozero 18), Dastre 19) u. a. benutzten Versuchsanordnung. Es wird dabei den Kaninchen aus der Carotis eine gewisse Menge Blut entzogen (meist 30 ccm), das Blut in einem sterilen Pulverglase durch Schütteln mit Glasperlen defibriniert, erwärmt und nach Filtration durch Leinen durch eine in die Vena jugularis eingebundene Glaskanüle mit Hülfe einer Bürette langsam wieder injiziert. Alle Manipulationen haben natürlich unter aseptischen Kautelen zu geschehen. Sonst tritt beim Kaninchen, wie es uns auch im Anfang vorgekommen ist, eine schnell verlaufende Sepsis ein. Wenn man die Blutentnahme und Injektion des defibrinierten Blutes mehrere Mal wiederholt (5 bis 7 Mal), so wird das Blut fast ganz ungerinnbar und enthält nur noch Spuren von Fibrinogen. Es mag noch erwähnt werden, daß es zweckmäßig ist, sich vor Anstellung des Versuches durch einen Aderlaß an einem anderen Kaninchen 20 bis 30 ccm Blut zu verschaffen, da bei der Defibrinierung immer etwas Blut verloren

;eht, die Entstehung einer Anämie aber möglichst vermieden werden oll. Diese 20 bis 30 ccm Reserveblut werden im Verlaufe des Veruches dem Tier allmählich zugleich mit seinem eigenen Blute injiziert.

Nach kurzer Zeit, 12—24 Stunden, ist, wie man aus den Unteruchungen von Dastre und Doyon (20) weiß, bereits eine Neubildung les Fibrinogens erfolgt, nach 48 Stunden ist eine erhebliche Veraehrung des Fibrinogengehaltes im Blute nachweisbar. Wir haben laher die Defibrinierung in der Regel nach 48 Stunden wiederholt und lie Tiere 1 bis 2 Tage danach durch Nackenschlag getötet. Während ler Dauer der Versuche wurden mehrfach Blutuntersuchungen aus;eführt, worüber sich das Nähere in den Protokollen findet.

Die Organe wurden noch lebenswarm in Müller-Formol fixiert, Milz und Knochenmark auch mehrfach in Ausstrichen untersucht. Die Färbung der Ausstriche geschah nach Jenner-May-Grünwald ınd Giemsa.

Die Organe (Knochenmark, Milz, Leber, Mesenteriale Lymphlrüsen, Niere) wurden an sehr dünnen (ca. 3 μ dicken) Paraffinıchnitten untersucht. Die schönsten Bilder erhielten wir mit der Schridde'schen (21) Azur II-Eosin-Acetonmethode und durch einfache Hämatoxylin-Eosinfärbung. Gelegentlich wurde auch die Triacidfärbung m Schnitt herangezogen mit nachfolgender Acetonbehandlung. Doch ɔot diese Methode keine Vorteile vor den beiden eben erwähnten Verahren. Für das Kaninchen möchten wir der Hämatoxylin-Eosinfärbung, ıehr dünne Schnitte vorausgesetzt, fast den Vorzug vor den anderen Verfahren geben, da neben der Kernstruktur auch eine ausgezeichnete Darstellung der pseudoeosinophilen und eosinophilen Granulationen ernöglicht wird.

III. Mitteilung der Versuche.

Im folgenden mögen die Protokolle unserer Versuche mitgeteilt verden. Als gelungen können Versuche an einem Hunde und drei Kaninchen angesehen werden. Außerdem wurden noch eine größere Reihe von Versuchen an Kaninchen gemacht, die aber sämtlich infolge der großen Empfindlichkeit der Tiere oder technischer Mängel (Sepsis, zu starke Abkühlung des Tieres, Eintreten von Pulnonalembolie) zum schnellen Tode führten. Über den Versuch am Hunde soll nur ganz kurz berichtet werden, da aus den oben erörterten Gründen eine einwandfreie Analyse der anatomischen Veränderungen nicht möglich war.

1. Hund S., ca. 10 kg schwer. Es wird 3mal in Abständen von 2 Tagen die Defibrinierung nach der oben erwähnten Methode ausgeführt. 24 Stunden nach der letzten Defibrinierung wird der Hund durch Chloroform getötet. Es hat sich schon wieder eine ziemlich reichliche Menge von Fibrin gebildet, obwohl der Hund in den letzten Tagen gehungert hat.

Der makroskopische Sektionsbefund bietet nichts Besonderes, außer etwa, daß das Femurmark ziemlich zerfließlich ist und die Malpighischen

Körperchen der Milz recht groß sind. Mikoskropisch finden sich in der Milzpulpa reichlich kernhaltige Rote und ziemlich spärlich Knochenmarksriesenzellen. Auf weitere Einzelheiten soll nicht eingegangen werden, da sich über die anderen Zellformen nichts Sicheres sagen läßt.

2. Kaninchen E., kräftiger Bock, 2,5 kg schwer.

18. Juli. Das Tier wird defibriniert, indem ihm 7mal 35—40 ccm Blut entzogen und nach Defibrinierung wieder eingespritzt werden. Dabei werden 35 ccm Blut eines anderen Kaninchens zum Ersatz des verlorenen verbraucht.

Tier nach dem Eingriff munter. Blut enthält Fibrin nur noch in Spuren, Gerinnung stark verlangsamt. 2 Stunden nach dem Eingriff: 4,4 Million. Rote, Leukocyten im Abstrich mäßig vermindert, spärliche Blutplättchen.

19. Juli. 5 Million. Rote, starke Polynukleose, keine Myelocyten im Abstrich.

20. Juli. Zweite Defibrinierung durch 5malige Blutentnahme. Fibrin danach sehr stark vermindert. Unmittelbar nach der Durchspülung 3,7 Million. Rote, vieilleicht durch die Verdünnung mit Kochsalzlösung bedingt. (Kochsalzlösung wurde zum Füllen der Schlauchverbindung an der Bürette benutzt.)

21. Juli. Tier munter. 4,35 Million. Rote. Enorme Polynukleose, die im Abstrich auf etwa 40—50000 geschätzt werden kann. Eine Zählung wurde leider versäumt.

In mehreren Präparaten 1—2 kernhaltige Rote und mehrere sichere Myelocyten. Zahlreiche pseudoeosinophile Polymorphkernige mit nur wenig geteiltem Kern Blutplättchen sehr spärlich.

22. Juli. Tier durch Nackenschlag getötet. An der Halswunde ein kleiner oberflächlicher Eiterflocken. Milz groß, blutreich, dunkel. Knochenmark des Femur und der Tibia graurot, weich, zerfließlich. Sonst findet sich makroskopisch nichts Besonderes.

Mikroskopische Untersuchung. Knochenmark des Femur.

Die Untersuchung der nach May-Grünwald gefärbten Ausstriche ergiebt keine sehr wesentlichen Abweichungen von den Bildern, die man beim normalen Kaninchen erhält. Im ganzen ist der Reichtum an Myelocyten und pseudoeosinophilen Polymorphkernigen nur erheblich größer als beim normalen. Auch kernhaltige Rote finden sich in größerer Menge und in allen Stadien der Entwicklung. Dagegen treten gegenüber dem Befunde beim normalen Kaninchen die lymphoiden Zellen (Myeloblasten nach Nägeli (22) und Schridde (23)) erheblich in den Hintergrund.

Viel klarerer treten die Veränderungen des Knochenmarkes im Schnitt hervor. Als Kontrollobjekt dient das Knochenmark eines normalen, erwachsenen Kaninchens.

Bei schwacher Vergrößerung erkennt man, daß das Mark des defibrinierten Tieres zwar noch ziemlich reichlich Fettzellen enthält, daß aber im ganzen das Zellmark erheblich ausgedehnter ist wie beim normalen Tier. Ferner fällt schon bei schwacher Vergrößerung im

Giemsa- und Hämatoxylin-Eosinpräparat der rote Farbenton der zelligen Partien auf. Wie die Betrachtung mit starker Vergrößerung ergibt, ist das Vorherrschen des roten Farbentones bedingt durch eine ganz erhebliche Vermehrung der pseudoeosinophilen granulierten Zellen. Während im Mark des normalen Kaninchens meist nur Gruppen von 5 bis 10 granulierten Zellen beisammen liegen, finden sich hier ganze Gebiete, in denen sich kaum eine ungranulierte Zelle findet und die zusammenhängenden Granulocytenverbände 50 und mehr Individuen betragen mögen.

Unter den Granulocyten überwiegen Zellen, die durch ihren ovalen, blassen, großen Kern charakterisiert sind. Das Chromatin findet sich in Form eines zierlichen Netzwerkes angeordnet, stellenweise sind auch nur Chromatinkörnchen zu erkennen. An mehreren Stellen in jedem Kern sind zarte Netzknötchen sichtbar, die an Nukleolen erinnern, aber weder so groß noch so regelmäßig sind, wie die Nukleolen der Lymphocyten. Die Kernmembran ist zart, aber deutlich erkennbar. Das Protoplasma dieser Zellen ist relativ groß und dicht erfüllt von pseudoeosinophilen Granulationen. Gröbere eosinophile Körnelungen sind nur in wenigen Zellen nachweisbar. Die hier beschriebenen Zellen haben alle Charaktere der Myelocyten. Kernteilungsfiguren finden sich in ihnen nur spärlich, in jedem Schnitt werden nur zwei bis drei Monasterfiguren wahrgenommen.

Außer den eigentlichen Myelocyten finden sich auch reichlich ähnliche Zellen mit eingebuchtetem Kern und alle Übergänge zu polymorphkernigen Zellen. Diese sind ebenfalls sehr zahlreich und finden sich im Gegensatz zu den Myelocyten, die mehr herdförmig angeordnet sind, zerstreut vor, häufig auch im Inneren von Gefäßen gelegen.

Die ungranulierten Zellen des Knochenmarkes treten gegen die granulierten ganz erheblich zurück, während sie im normalen Knochenmark etwa 50 Proz. aller Zellen ausmachen mögen. Unter ihnen überwiegen Zellen mit intensiv dunkelgefärbtem Kern, der die charakteristische Radstruktur des Chromatins erkennen läßt. Meist erkennt man einen schmalen acidophilen Protoplasmasaum. Es handelt sich hier um Normoblasten, die gegen die Norm nur unerheblich vermehrt zu sein scheinen. Unter ihnen finden sich aber ziemlich zahlreiche Monaster- und Diasterfiguren. Die Lage der Normoblasten entspricht den normalen Verhältnissen: sie liegen in rundlichen oder langgestreckten Herden von 10 bis 20 Einzelindividuen in unmittelbarer Umgebung oder innerhalb der Gefäße, was nicht sicher zu erkennen ist.

Außer den Normoblasten finden sich noch andere ungranulierte Zellen, meist in der Umgebung oder innerhalb der Myelocytenherde. Chromatingerüst und Kernform entsprechen dem der Myelocyten, das Protoplasma ist ziemlich massig, bei Hämatoxylinfärbung rauchgrau bis violett gefärbt und unregelmäßig polyedrisch begrenzt. In einigen von diesen Zellen findet man schon vereinzelte pseudoeosinophile Granulationen, die meisten sind ganz frei von solchen. Diese Zellen entsprechen zweifellos den lymphoiden Zellen des Abstriches und sind also als Myeloblasten im Sinne von Nägeli (23) und Schridde (23) anzusehen. Sie sind gegen die Norm ganz erheblich vermindert.

Die Knochenmarksriesenzellen scheinen etwas vermehrt zu sein. Sie enthalten nicht selten in ihrem Protoplasma Reste polymorphkerniger Leukocyten. Sonst bieten diese Zellen nichts Besonderes.

An einigen Stellen sind im Knochenmark Chromatinschollen und Körnchen zu sehen, aber sonst keine stärkeren Erscheinungen des Zerfalles roter Blutkörperchen wahrzunehmen.

Faßt man den Befund am Knochenmark kurz zusammen, so ergibt sich eine sehr starke Vermehrung der Myelocyten und polymorphkernigen Leukocyten, geringe Vermehrung der Erythroblasten und Verminderung der lymphoiden Elemente, resp. Myeloblasten. Wir haben es also mit einer sehr intensiven myeloiden Reaktion zu tun. Die Abnahme der ungranulierten Elemente dürfte darauf zurückzuführen sein, daß sie in beschleunigtem Tempo in Myelocyten übergehen. Ein Beweis dafür ist der nicht seltene Befund einer Zelle, die nur einige spärliche Granulationen enthält.

Den interessantesten Befund bietet die Milz des Kaninchens.

In den Ausstrichen besteht die Mehrzahl der Zellen aus Erythrocyten und kleinen Lymphocyten. Unter den Zellen von lymphoidem Charakter finden sich aber recht zahlreich solche, die sich durch ihre Größe und durch den erheblich breiteren und stärker basophilen Protoplasmasaum auszeichnen, in dem sich häufig vereinzelte Vakuolen finden. Einige der Zellen dieses Typus enthalten vereinzelte pseudoeosinophile Granulationen, sind also als junge Myelocyten anzusprechen. Daher ist es wahrscheinlich, daß auch die noch ungranulierten Zellen Vorstufen von Myelocyten sind. Neben diesen Zellen finden sich auch ziemlich reichlich Myelocyten mit zahlreichen pseudoeosinophilen Granulationen. Das Protoplasma der meisten dieser Zellen ist noch stark basophil, es handelt sich also wohl um jugendliche Zellen. Bei einigen Exemplaren ist das Protoplasma aber nur noch ganz schwach oder gar nicht gefärbt. Sehr groß ist die Menge der polymorphkernigen Leukocyten, unter denen sich auch vielfach Zellen in allen Stadien des Zerfalls befinden. In geringer Zahl finden sich kernhaltige Rote, und zwar neben wohl ausgebildeten Normoblasten auch junge Formen mit blasserem Kern und polychromatophilem Protoplasma. Ein besonders buntes Aussehen erhält das Bild durch die Anwesenheit zahlreicher Makrophagen. Man kann unter ihnen zwei Arten unterscheiden: ein Teil dieser Zellen besteht aus mittelgroßen Elementen von lymphoidem Habitus, die in ihrem Protoplasma rote Blutkörperchen einschließen, die offenbar im Inneren der Zelle einer Resorption unterliegen; denn man findet alle Übergänge von wohl erhaltenen Blutkörperchen zur Vakuole, die noch mit mehr oder weniger acidophiler Substanz gefüllt ist. Zahlreicher noch sind große Makrophagen von der doppelten bis zur zehnfachen Größe eines Leukocyten. Diese Zellen besitzen einen großen, sehr zarten und nur leicht gekörnten Protoplasmaleib und einen exzentrisch gelegenen großen ovalen bis wurstförmigen Kern, der sehr chromatinarm ist. Der Kern nimmt im Durchschnitt $^1/_3$ bis $^1/_4$ der Zelle ein.

as Protoplasma dieser Elemente ist vollgestopft mit polymorphkernigen eukocyten und Erythrocyten, es überwiegen aber die Leukocyten, an enen man alle Stadien der Auflösung von der Pyknose bis zum Zerill des Kernes in mehrere stark lichtbrechende Tropfen gut erkennen ann. Vielfach kann man nur noch eine Anzahl Granula an der Stelle rkennen, wo ein Leukocyt der Auflösung anheimgefallen ist. Außerem sind die Zellen noch von mannigfachen, nicht mehr deutlich erkennaren Trümmern und Pigmentschollen erfüllt.

Schnittpräparate von der Milz ergeben, daß das Gewebe der Folkel gegenüber der Pulpa erheblich zurücktritt. Die Pulpa ist in merk'ürdiger Weise verändert: schon bei schwacher Vergrößerung erkennt ıan, daß sie aus einem zarten Gewebe besteht, das ziemlich große, undliche oder polyedrische Maschen umschließt, so daß ein Bild ent:eht, das entfernt etwa an einen Schnitt durch Lungenparenchym erınert. Das zellige Pulpagewebe ist meistenteils auf schmale, etwa ein is drei Zellen dicke Scheidewände zwischen den Hohlräumen reduziert. 'ie Hohlräume entsprechen zweifellos den erweiterten Venengeflechten er Pulpa (Billrothschen Venen). Sie sind nämlich zum Teil von ernlosen roten Blutkörperchen erfüllt. Einige von ihnen enthalten aber uch vornehmlich eine geronnene, homogene, eiweißartige Masse. Außer rythrocyten, finden sich in den erweiterten Kapillaren noch ziemlich :ichlich Normoblasten, polymorphkernige Leukocyten und auch einige yelocyten. Betreffs der Identifizierung dieser Elemente muß, um Wider›lungen zu vermeiden, auf die ausführliche Beschreibung der Knochenarksschnitte verwiesen werden. Die bei Besprechung der Abstriche iher beschriebenen Makrophagen sind auch im Schnitt gut erkennbar. ie liegen in kleinen Herden oder auch einzeln innerhalb der Sinus. ır Protoplasma ist ungemein zart, so daß ihre periphere Begrenzung aum zu erkennen ist. In jedem Schnitt lassen sich auch ein bis zwei ellen erkennen, die alle typischen Merkmale der Knochenmarksriesenellen aufweisen.

Die Pulpastränge, die in Form eines feineren oder gröberen Netzerkes die Hohlräume umziehen, bestehen zum größten Teil aus Zellen it mäßig großem, granulationslosen Protoplasmaleib und einem ovalen ler langgestreckten, sehr chromatinarmen Kern mit zartem Kerngerüst. in Teil dieser Zellen hat kernlose rote Blutkörperchen aufgenommen. 'ie Zellen dürften als Endothelien oder Pulpazellen anzusprechen sein.

Außerdem finden sich im Retikulum recht zahlreiche Herde von ellen, die sich durch ihren ovalen, bläschenförmigen Kern mit zartem hromatinnetz und durch ihr mehr oder weniger reichlich pseudoeosinohil gekörntes Protoplasma zweifellos als Myelocyten zu erkennen eben. Die Zellen liegen in kleinen Gruppen von vier bis sechs Individuen beisammen. Einige dieser Zellen weisen nur spärliche Granuıtionen auf, sind also wahrscheinlich als junge Myelocyten anzusprehen. Dagegen finden sich keine herdförmigen Anhäufungen von Norıoblasten.

Die Malpighischen Körperchen bieten nichts Besonderes, zeigen speell keine Erscheinungen lebhafter Zellregeneration.

Im ganzen kann man den mikroskopischen Befund der Milz dahin zusammenfassen: Deutliche myeloide Umwandlung der Milzpulpa durch herdförmige Wucherung von Myelocyten, deutliche Zeichen einer lebhaften Phagocytose roter und weißer Blutkörperchen durch einkernige Elemente, die vermutlich als Milzpulpazellen anzusehen sind, starke Hyperämie der Pulpa. Die Venenplexus der Pulpa enthalten alle Elemente des Knochenmarkes in größerer oder geringerer Menge.

Auf die Beschreibung der übrigen Organe braucht nicht ausführlicher eingegangen zu werden, da wesentliche pathologische Veränderungen sich nicht vorfinden, speziell keine Zeichen myeloider Umwandlung. In den Schnitten einer mesenterialen Lymphdrüse finden sich die Lymphsinus dicht erfüllt von großen, blassen, mononukleären Zellen, die reichlich eisenfreies Pigment und spärliche rote Blutkörperchen enthalten. In geringerer Anzahl finden sich diese Makrophagen übrigens auch in den Lymphknoten der normalen Tiere. Die Lymphfollikel selbst bieten nichts Besonderes, ebensowenig die Markstränge.

In der Leber sind ebenfalls erhebliche pathologische Veränderungen nicht nachweisbar. Zeichen myeloider Umwandlung fehlen. Auf kleine, im peripostalen und interacinösen Gewebe gelegene zellreiche Herde, die aus lymphocytenähnlichen Elementen sich zusammensetzen, ist wohl kein großer Wert zu legen, da sie sich auch bei normalen Tieren finden. Die Niere bietet keinerlei Veränderungen.

Eine ausführlichere Besprechung der Resultate soll erst am Schluß im Zusammenhang gegeben werden. Die beiden anderen an Kaninchen ausgeführten analogen Versuche sollen kürzer mitgeteilt werden, da es sich immer im wesentlichen um dieselben Veränderungen handelt.

III. Kaninchen K., kräftiger Bock, 2,3 kg.

22. VII. Defibrinierung: 7 mal 30—40 ccm.

23. VII. 4,5 Millionen Erythrocyten. 25 000 Leukocyten. Starke Polynukleose, ziemlich wenig Lymphocyten.

24. VII. Defibrinierung durch 5 malige Entziehung von 30—40 ccm Blut.

25. VII. 3,95 Mill. Erythrocyten. 16 000 Leukocyten. Keine kernhaltigen Roten, keine Myelocyten.

Tier durch Nackenschlag getötet. Am Halse einige subfasciale Hämorrhagien, sonst findet sich makroskopisch nichts Besonderes. Das Knochenmark des Femur ist ziemlich blaß und weich.

Mikroskopische Untersuchung.

Knochenmark des Femur. Das Mark bietet im Schnitt fast nau die gleichen Veränderungen, wie das des oben beschriebenen Kaachens, d. h. also eine starke Vermehrung der Myelocyten und Metayelocyten. Neben den pseudoeosinophilen Zellen sieht man hier auch mlich zahlreich eosinophile Myelocyten mit grellroten, groben Gralationen. Myelocytenkernteilungen werden in jedem Präparat mehrch angetroffen. Polymorphkernige Leukocyten finden sich nur in geiger Zahl. Die Erythroblasten sind mäßig vermehrt. Auch unter nen finden sich zahlreiche Kernteilungsfiguren, die Megakaryocyten eten nichts Besonderes. Erheblich vermindert ist auch in diesem Mark e Zahl der Myeloblasten (oder lymphoiden Zellen), die nur in wenigen cemplaren in der Umgebung und innerhalb von Myelocytenhaufen antreffen sind.

Milz. Der Milzsausstrich zeigt insofern ein ähnliches Bild wie im Kaninchen E, als sich auch hier neben Lymphocyten und Erythroten Myelocyten finden, allerdings in etwas geringerer Anzahl wie bei Reich ist die Milz besonders an jungen Myelocyten, die sich durch r breites, stark basophiles Protoplasma auszeichnen und nur spärliche ranulationen zeigen. Einige dieser Zellen enthalten keine eosinophilen, ndern violette, metachromatische Granulationen, die durch ihre Feinit von den Mastzellengranulis leicht zu unterscheiden sind. Es sind s ohne Zweifel die von Blumenthal (24) näher beschriebenen metaromatischen Granula junger Myelocyten, die übrigens bereits Rubinein (25) abgebildet hat. Auch kernhaltige Rote in allen Bildungsstaen sind im Abstrich reichlich nachweisbar.

Im Schnitt zeigt sich, daß die Lymphfollikel keine besonderen Verderungen bieten. Die Pulpa ist blutreich, das Venennetz aber lange cht in dem Maße erweitert wie bei E. Außer den gewöhnlichen lpazellen und vereinzelten kernhaltigen Roten finden sich im Pulpawebe auch hier mäßig reichlich kleine, vier bis fünf Individuen umssende Herde von Myelocyten, die extravaskulär gelegen sind. Auch ne Myelocytenkernteilung wird in einem Herde gefunden.

Auch in der Leber finden sich, allerdings ziemlich spärlich, im riportalen und interacinösen Gewebe kleine Herde von drei bis vier yelocyten, die zum Teil sicher extravaskulär gelegen sind.

Die übrigen Organe bieten nichts Besonderes.

IV. Kaninchen S, 2 kg.

16. VIII. Defibrinierung durch 5 malige Entziehung von 35 ccm Blut.

17. VIII. Tier munter. 5,2 Million. Rote. 42000 Leukocyten (!), von 80—90 Proz. Polymorphkernige, die zum Teil nur spärlich graliert sind. Keine kernhaltigen Roten, keine Myelocyten.

18. VIII. 22000 Leukocyten.

19. VIII. Tier stirbt im Beginn der Infusion infolge Pulmonalnbolie. Makroskopisch findet sich bei der Autopsie nichts Besonderes.

Mikroskopische Untersuchung.

Das Knochenmark des Femur bietet qualitativ genau die ichen Veränderungen wie in den beiden anderen Fällen. Quantitativ

sind die Veränderungen vielleicht nicht ganz so stark ausgesprochen, auch hier wieder Vermehrung der Myelocyten, Verminderung der ungranulierten Elemente.

Im Abstrich der Milz sind spärliche Myelocyten, kernhaltige Rote und einige Riesenzellen zu finden, im Schnitt neben spärlichen verstreuten kernhaltigen Roten und Myelocyten auch einzelne Herde von vier bis fünf Myelocyten, extravaskulär in der Pulpa gelegen. Auch hier finden sich mehrfach Kernteilungsfiguren in Myelocyten. Reich ist die Pulpa auch an polymorphkernigen Leukocyten und Phagocyten, die mit Trümmern roter und weißer Blutkörperchen beladen sind.

Die übrigen Organe zeigen nichts Besonderes.

In allen diesen Versuchen, und zwar auch in dem letzten, in dem die Defibrinierung nur einmal vorgenommen worden war, haben sich qualitativ gleiche Veränderungen ergeben, die man kurz dahin zusammenfassen kann: Starke Leukocytose bis über 40000, erhebliche myeloide Reaktion des Knochenmarkes und myeloide Herde in der Milz, in einem Falle auch in der Leber. Daß es sich nicht allein um eine Einschleppung von Myelocyten, sondern auch um eine Wucherung derselben in der Milz handelt, ergibt sich unmittelbar aus der herdförmigen Anordnung dieser Elemente und aus dem Nachweis der Kernteilungsfiguren. Auf die Frage, ob überhaupt eine Einschleppung von Myelocyten in die Milz notwendig ist, damit myeloide Herde sich ausbilden, soll hier nicht eingegangen werden. Immerhin dürfte die Tatsache, daß sich in der Milz in unseren Fällen auffallend viel junge Myelocyten mit wenig granuliertem, stark basophilem Protoplasma finden, die im Knochenmark gegenüber den voll ausgebildeten Formen erheblich zurücktreten, eher für die Entstehung in loco im Sinne von Schridde (23), Pappenheim (26), Meyer und Heineke (27) u. a. und gegen Helly (28) und Ziegler (29) sprechen.

Es fragt sich nun, ob die Wahrscheinlichkeit besteht, daß diese starke myeloide Reaktion und die Metaplasien mit der Entziehung und Neubildung des Fibrinogens in Beziehung zu bringen ist. Es liegt in der Natur der Sache, daß sich mit histologischen Untersuchungsmethoden ein zwingender Beweis dafür nicht beibringen läßt. Immerhin gelingt es durch einige Kontrollversuche, den Zusammenhang recht wahrscheinlich zu machen.

Daß nicht etwa eine Anämie, die wie die Erythrocytenzahlen ergeben, nur sehr unbedeutend gewesen sein kann, die Ursache der starken myeloiden Methaplasien ist, ergeben zahlreiche Versuche die wir zu einem anderen Zwecke ausgeführt haben. In keinem

dieser Versuche konnte bei posthämorrhagischen Anämien die Ausbildung myeloider Herde in anderen Organen beim Kaninchen beobachtet worden.

Wichtiger erscheint der Einwand, daß die Entziehung und Wiedereinspritzung des Blutes, die ja natürlich eine gewaltige Schädigung darstellt, einen starken Reiz für das Knochenmark abgeben und die Metaplasien bedingen könnte. Daß in der Tat manche Erythrocyten durch diese Prozndur geschädigt werden, ergibt sich aus der ziemlich starken Zerstörung dieser Zellen durch Phagocyten in Milz und Lymphdrüsen. Um zu entscheiden, ob überhaupt die An- oder Abwesenheit des Fibrinogens von irgend erheblichem Einfluß ist, müßte man dem Tier das Blut entziehen, es schütteln ohne daß Gerinnung eintritt und wieder injizieren. Es bleibt dann das ganze Fibrinogen im Blute. Diese Aufgabe ist zu lösen, seitdem man in dem durch Franz (30) hergestellten Hirudin, der wirksamen Substanz der Blutegel, einen Körper hat, der die Blutgerinnung verhindert, ohne daß bisher für das Tier schädliche Wirkungen bekannt geworden sind. Allerdings fehlen noch histologische Untersuchungen darüber, wie Hirudin die blutbildenden Organe beeinflußt. Nur negative Versuche können also verwertet werden.

Wir haben mehrere Versuche in der Weise ausgeführt, daß 30 ccm Blut in 5 bis 7 ccm einer 1 pro mille Hirudin-Kochsalzlösung aufgefangen, durchgeschüttelt und den Tieren wieder eingespritzt wurden. Zwei von diesen Versuchen können insofern als gelungen angesehen werden, als die Kaninchen eine zweimalige, in Abständen von zwei Tagen vorgenommene Infusion überlebten. Aber es stellten sich bei beiden Tieren bald nach der zweiten Infusion Krankheitserscheinungen ein', die dazu nötigten, die Kaninchen zu töten. Als Ursache des schweren Krankheitszustandes konnten in beiden Fällen ausgedehnte Verfettungen und Nekrosen des Leberparenchyms nachgewiesen werden, die der Leber schon makroskopisch ein graugelbes Aussehen verliehen. Auf die Details der histologischen Befunde der Leber soll hier nicht eingegangen werden, ebensowenig darauf, ob das Hirudin selbst toxische Wirkungen ausübt oder ob es sich um andere Momente handelt. Daß keine septische Infektion vorlag, können wir mit Sicherheit behaupten. Immerhin lassen die Versuche trotz dieser störenden Nebenwirkungen doch sich insofern verwerten, als sich nirgends, weder in der Milz, noch in anderen Organen Zeichen myeloider Umwandlung nachweisen ließen, trotzdem nach der Infusion eine erhebliche Leukocytose von 20—30000 Leukocyten einsetzte und sich auch einige Myelocyten im Blute vorfan-

den. Dem entsprach auch eine recht erhebliche Vermehrung der Myelocyten im Knochenmark, die nur wenig hinter der bei den defibrinierten Tieren zurückstand. Man kann natürlich im Zweifel sein, inwieweit diese Veränderungen durch die Leberaffektion mit beeinflußt und hervorgerufen worden sind, resp. inwieweit das Hirudin daran beteiligt ist. Nehmen wir aber auch den Fall, daß allein die Entziehung und Wiedereinspritzung des Blutes die Leukocytose veranlaßt hat, so bleibt trotzdem noch die Tatsache bestehen, daß Leukocytose und myeloide Reaktion bei Einspritzung defibrinierten Blutes erheblich lebhafter ist, und daß es dabei zur Ausbildung myeloider Herde in Milz und Leber kommt, und zwar schon in sehr kurzer Zeit*).

Es sprechen also die Kontrollversuche mit Wahrscheinlichkeit in dem Sinne, daß die starke myeloide Reaktion und die myeloiden Metaplasien in den ersten Versuchen in der Tat mit der Defibrinierung und der Neubildung des Fibrins zusammenhängen. Ausdrücklich mag noch betont werden, daß die oben mitgeteilten Versuche, wenn sie allein für sich dastehen würden, nicht eindeutig genug wären, um nach dieser Richtung hin verwertet zu werden. Sie bilden aber nur — und das war ja auch der Ausgangspunkt für diese Versuche — eine Ergänzung der mit chemischen Methoden gewonnenen Befunde. Wenn man nun die Resultate von P. Th. Müller mit unseren vergleicht, so sieht man, daß chemische und histologische Untersuchungen hier zu denselben Anschauungen führen, sie weisen auf die Rolle des myeloiden Gewebes bei der Entstehung des Fibrinogens hin.

Für die direkte Beteiligung der Leber an diesem Vorgange, die Doyon u. A. vermuten, ließen sich histologisch keine Anhaltspunkte beibringen.

Zum Schluß mag noch bemerkt werden, daß unsere Hoffnung, bei dieser Gelegenheit etwas über die Genese der Blutplättchen zu erfahren, sich nicht bewahrheitet hat. Durch das Defibrinieren werden ja, wie man seit Bizzozero (18) weiß, die Blutplättchen zum größten Teil vernichtet. Sie ersetzen sich in einigen Tagen. Weder im Knochenmark, noch in der Milz oder Leber haben wir Bilder gefunden, die sich im Sinne einer Blutplättchengenese verwerten lassen.

*) Anmerkung bei der Korrektur. In einem später ausgeführten Versuch mit Hirudin konnten keine Leberveränderungen nachgewiesen werden. Die Leukocytose war gering (bis 13 000), myeloide Umwandlungen waren in keinem Organ nachweisbar.

›eziell sei Wright (31) gegenüber hervorgehoben, daß auch an :n Megakariocyten irgend welche Zeichen von Abschnürungen oder rgl. nicht festgestellt werden konnten, was ja auch Schridde (32) hon erwähnt hat.

Zusammenfassung.

1. Bei Kaninchen, die nach der Methode von Bizzozero defiiniert werden, tritt sehr schnell eine starke Leukocytose, myeloide :aktion des Knochenmarkes und eine myeloide Umwandlung in ilz (und Leber) auf.

2. Verfährt man so, daß man nur Blutentziehungen und Injek›nen ohne Defibrinierung ausführt, so bleiben die myeloiden Umındlungen aus. (Versuche mit Hirudin.)

3. Es sprechen diese Erfahrungen für die Bedeutung des myeloin Gewebes bei der Neubildung des Fibrinogens. Sie stehen mit n Resultaten der chemischen Forschung in Einklang.

Literatur.

1) Wallerstein, J. D. Straßburg, 1902.
2) Lewinski, Pflügers Arch. 100, 611.
3) Githens, Hofmeisters Beiträge 5, 515.
4) Inagaki, Zeitschr. f. Biolog. 40, 77.
5) Doyon, Morel und Kareff. Zahlreiche Abhandlungen in den C. r. la soc. de biolog. Bd. 58 und 60, 1904—1906, und Doyon und Gautier, r. de la soc. de biol. 62, 1907.
6) Corin und Ansiaux, Vierteljahrsschrift für gerichtl. Med. 3, 434.
7) Jacoby, Zeitschrift f. physiol. Chemie, 30, 174.
8) Doyon et Petitjean, C. r. soc. de biol. 58, 427.
9) Pohl, Hofmeisters Beiträge 7, 381.
10) Nolf, Arch. internat. de Physiol. 3, 1, 1905/06.
11) Loeb, Hofmeisters Beiträge 5, 191 und 534.
12) Dastre, Arch. de physiol. 25, 169 und 327, 1894.
13) Mathews, Americ. Journ. of Physiol. 3, 53, 1899.
14) Pfeiffer, Zeitschr. f. klin. Med. 33, 215 und Centralbl. f. innere Med. ›04, 809.
15) Langstein und Mayer, Hofmeisters Beiträge 5, 68.
16) P. Th. Müller, Hofmeisters Beiträge 6, 454.
17) Tallquist, Über experim. Blutgiftanämieen. Berlin 1900.
18) Bizzozero, Internationale Beiträge zur Virchow-Festschrift, 1891, 1. I.
19) Dastre, C. r. de la soc. de biol. 45, 71.
20) Doyon, Gautier und Morel, C. r. de la soc. de biol. 62, 3, 1907.

21) Schridde, Zentralbl. f. pathol. Anatom. 1905, 19.

22) Nägeli, Deutsche med. Wochenschr. 1900, 18.

23) Schridde, Beiträge zur patholog. Anatom. u. allgem. Patholog. 41, 1907, 223.

24) Blumenthal, La Genèse des cellules sanguines. Bruxelles 1904.

25) Rubinstein, Zeitschr. f. klin. Med. Bd. 42.

26) Pappenheim, Folia hämatol. IV, 1907, S. 332.

27) Meyer und Heinoke, D. Arch. f. klin. Med. Bd. 88, S. 435.

28) Helly, Die hämatopoetisischen Organe. Wien 1906. S. 160ff.

29) Ziegler, Experim. u. klin. Untersuch. über die Histogenese der myeloid. Leukämie. Jena 1906.

30) Franz, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 49, 342.

31) Wright, Boston. Medic. and Surg.-Journal. June 1906. Cit. n. Schridde.

32) Schridde, Anatom. Hefte, H. 99. Bd. 33, 1907.

VII.

Aus der medizinischen Klinik in Greifswald (Direktor Prof. O. Minkowski.)

Die Wirksamkeit des Trypsins und eine einfache Methode zu ihrer Bestimmung.

Von

Dr. med. Oscar Gross, Assistenzarzt der Klinik.

Zur Zeit mit Untersuchungen des Pankreassaftes von Hunden beschäftigt, empfand ich das Bedürfnis nach einer einfachen schnellen und dabei exakten Methode zur Bestimmung der Wirksamkeit des eiweißspaltenden Ferments in diesem Safte. Zwar existieren hierfür schon mehrere Methoden, ursprünglich wohl alle zur Untersuchung des Pepsins ausgedacht. Der größten Beliebtheit dürfte sich wohl die Mettsche Methode erfreuen, die darin besteht, daß Glaskapillaren von 1—2 mm Durchmesser, mit coaguliertem Hühnereiweiß gefüllt, dem Verdauungsgemisch ausgesetzt werden. Die Länge der in einer bestimmten Zeit beiderseits verdauten Eiweißsäule gibt ein Maß für die eiweißspaltende Kraft der zu untersuchenden Flüssigkeit.

Es ginge weit über den Rahmen dieser Mitteilung hinaus, wenn ich auf die ausgedehnte Literatur eingehen wollte, die über diese Methode, die vor allem der Untersuchung des Pepsins dient, vorliegt. Manche Untersucher rühmen sie als sehr genau und exakt andere verwerfen sie oder glauben sie nur in einer modifizierten Form verwerten zu dürfen. Ich verweise nur auf die Abhandlungen von Schorlemmer[1]), Nierenstein und Schiff[2]) und Kaufmann.[3])

---

1) Rudolf Schorlemmer, Untersuchungen über die Größe der Eiweißverdauenden Kraft des Mageninhalts Gesunder, wie Magen- und Darmkranker unter kritisch vergleichender Benutzung der Hammerschlag- und Mettschen Methode. Archiv f. Verdauungskrankheiten, Band VIII (1902) p. 299.

2) E. Nierenstein und A. Schiff, Über die Pepsinbestimmuug nach Mette und die Notwendigkeit ihrer Modifikation für klinische Zwecke, ebenda p. 559.

3) J. Kaufmann, Zur Frage der quantitativen Pepsinbestimmung nach Mette (Modifikation Nierenstein-Schiff) ebenda Band IX (1903) p. 562.

Der erstgenannte Autor lobt die Methode in ihrer ursprünglichen Form, Nierenstein und Schiff suchen darzutun, daß die Form, in der Schorlemer die Methode angewandt hat, zum Teil ganz ungenaue Resultate gibt und modifizieren sie; der zuletzt genannte Untersucher weist dann nach, daß die Methode weder mit noch ohne Modifikation genaue Resultate gibt. Ich könnte dieses Beispiel sich widersprechender Ansichten noch vermehren, glaube mich aber hierauf beschränken zu können. Das glaube ich jedenfalls aus allen diesen Arbeiten ersehen zu haben, und es lehrt mich auch meine eigene Erfahrung, daß die Mettsche Methode zwar unter Umständen zu Vergleichszwecken brauchbar ist und für manche klinische Zwecke genügt, daß sie aber ganz genaue Resultate, wie sie zu wissenschaftlichen Untersuchungen notwendig sind, nicht gibt.

Anders steht dies mit der von Volhard[1]) angegebenen Methode, die dann von Löhlein[2]), Faubel[3]) und Volhard selbst für Magensaft und Pankreassekret praktisch verwertet wurde. Das Prinzip der Methode, wie sie zu Pepsinbestimmungen verwendet wird, besteht darin, daß salzsaures Kasein aus seiner Lösung durch Natriumsulfat gefällt wird, sodaß mit einer bestimmten Menge Kasein auch die Salzsäure ausfällt, die an das Kasein gebunden ist. Das Filtrat enthält nur die überschüssige, nicht an Kasein gebundene Salzsäure. Sobald aber eine Pepsinverdauung des salzsauren Kaseins stattgefunden hat, werden die salzsauren Kaseosen nicht mehr durch Natriumsulfat gefällt, passieren das Filter und vermehren die Acidität des Filtrats. Aus der Aciditätszunahme wird die Stärke der stattgehabten Verdauung bestimmt. Dadurch, dass man eine alkalische Kaseinlösung als Stammlösung benutzt und erst nach der Verdauung die Salzsäure zusetzt, läßt sich die Methode auch für Trypsin brauchbar machen.

Das wichtigste Resultat, das Volhard mit dieser Methode erhielt, war der Nachweis, daß die tryptische Verdauung nicht, wie

---

1) F. Volhard, Über eine neue Methode der quantitativen Pepsinbestimmung usw., Münchener medizinische Wochenschrift, Bd. 50 (1903) Nr. 49, p. 2129. — Über die Untersuchung des Pankreassaftes beim Menschen und eine Methode der quantitativen Trypsinbestimmung. Münchener medizinische Wochenschrift, 1907, Nr. 9, p. 403.

2) Walter Löhlein, Über die Volhardsche Methode der quantitativen Pepsin- und Trypsinbestimmung. Hofmeisters Beiträge Bd. VII (1906) p. 120/143.

3) Otto Faubel, Untersuchungen über den menschlichen Bauchspeichel und das Fermentgesetz des Trypsins. Hofmeisters Beiträge 1907 Band 10 Heft 1/3, p. 35/52.

die peptische, nach dem Schütz-Borissowschen Gesetz erfolgt, das aussagt, daß sich die Mengen der Verdauungsprodukte (nach Volhard die Aciditätszunahmen) bei verschieden starken Säften verhalten wie die Quadratwurzeln aus Verdauungszeiten und Fermentmengen. Bei der Trypsinverdauung verhalten sich vielmehr nach Volhard die Aciditätszunahmen direkt proportional diesen beiden Faktoren.

Was die Methode selbst betrifft, so ist sie zwar exakt, aber doch etwas umständlich und zeitraubend.

Da es mir bei meinen Untersuchungen darauf ankam, ein Verfahren zu haben, das neben der Einfachheit und Schnelligkeit auch den Vorzug der Genauigkeit besitzt, so wählte ich eine Methode, die im folgenden beschrieben werden soll: Ihr Prinzip besteht darin, daß Kasein, das bei schwacher Alkalescenz leicht löslich ist, im Gegensatz zu seinen Verdauungsprodukten bei Ansäuern mit verdünnter (1%) Essigssäure aus dieser Lösung wieder ausfällt.

Ich stelle mir also eine Kaseinlösung her, indem ich 1 g Caseinum purissimum (entfettet) (Grübler) in einem Liter einer einpromilligen Natrium-carbonicum-Lösung auflöse und zur Vermeidung von Bakterienwirkung mit Chloroform gut umschüttele. In eine Reihe von Reagenzgläsern kommen je 10 cc dieser auf 40 Grad vorgewärmten Flüssigkeit. Dazu setze ich in steigenden Mengen die zu untersuchende Fermentlösung und lasse das Gemisch eine entsprechende Zeit im Thermostaten bei 40 Grad stehen. Die Gläser werden dann dem Schrank entnommen und zu jedem mehrere Tropfen verdünnter Essigsäure zugesetzt. Hierdurch wird der Verdauungsprozeß momentan unterbrochen. Der Inhalt der Gläser, in denen alles Kasein verdaut ist, bleibt auch nach dem Säurezusatz klar, während die Gläser, in denen noch nicht alles Kasein verdaut ist, nach dem Zusatz der Essigsäure eine stärkere oder schwächere Trübung zeigen.

Zuerst versuchte ich mit Hülfe von Trypsinlösungen den Verlauf der Verdauung und die dabei mitspielenden Faktoren zu prüfen. Ich benutzte dazu eine in einpromilliger Sodalösung gelöste einpromillige Lösung von Trypsin-Grübler.

Von Einfluß auf die Menge des verdauten Kaseins sind natürlich in erster Linie 2 Faktoren, die Menge des verdauenden Ferments und die Zeit der Einwirkung. Daneben können noch gewisse Nebenumstände von Einfluß sein, wie die größere

oder geringere Konzentration des Verdauungsgemisches, die höhere oder niederere Alkalescenz, natürlich auch die Temperatur, bei der der Prozeß vonstatten geht.

Um zunächst die letztgenannten Punkte zu besprechen, möchte ich gleich erwähnen, daß meine sämtlichen Versuche so angestellt wurden, daß alle zur Anwendung gelangenden Flüssigkeiten auf 40 Grad C. vorgewärmt wurden, der Verdauungsprozeß selbst in einem auf 40 Grad C. eingestellten Thermostaten vor sich ging.

Alle Flüssigkeiten besaßen die einer einpromilligen Sodalösung entsprechende Alkalescenz. Ich möchte aber hier schon erwähnen, daß mich Kontrollversuche lehrten, daß Schwankungen in der Alkalescenz von 0,5 bis 2 promille ohne jeden Einfluß auf die Stärke der Verdauung waren. Ebenso war die Menge der Flüssigkeit, in der eine bestimmte Quantität von Kasein und Trypsin gelöst war, ohne Einfluß, wie dies aus Versuch 1 hervorgeht:

Versuch I.

1)	5 cc	Kaseinlösung +	0,1 cc	Trypsinlösung +	0 cc	1‰-Sodalösg.
2)	„	„	„	„	2	„
3)	„	„	„	„	4	„
4)	„	„	„	„	8	„
5)	„	„	„	„	16	„

Nach 25 Minuten gaben sämtliche Gläschen bei Säurezusatz noch deutliche Trübung, nach 27 Minuten noch Andeutung, nach 30 Minuten war in allen Gläschen die ganze Kaseinmenge verdaut. Es geht aus diesem Versuch also hervor, daß die Verdauung in allen Gläschen gleich schnell vor sich ging und daß die Verdünnung vollkommen einflußlos war.

Trotzdem habe ich immer alle Gläschen mit einpromilliger Sodalösung auf dasselbe Volumen (15 cc) aufgefüllt.

Ich komme jetzt zu dem wichtigsten Punkte, dem Einfluß der Zeit der Einwirkung und der Menge des Ferments. Meine Versuchsanordnung war dabei die, daß auf einer Sekundenuhr (Sportuhr) möglichst genau die Zeit der Einfüllung und des Säurezusatzes notiert wurde. Die Differenz beider gab die Zeit der Einwirkung an. Um den Einfluß verschiedener Fermentmengen zu studieren, setzte ich steigende Mengen von Trypsinlösung zu Gruppen von je 10 Reagenzgläsern, sodaß die zu je einer Gruppe gehörenden Gläschen unter sich gleichen Trypsingehalt hatten. Jedes Glas enthielt 10 cc Kaseinlösung. Um größere Temperaturschwankungen durch das häufige Öffnen des Thermostaten zu ver-

meiden, stellte ich die Gläser in Gefäße, die mit Wasser von 40° gefüllt waren.

Es wurde nun bei der Gruppe, deren Gläschen den höchsten Trypsingehalt enthielten, begonnen, und fortwährend kleine Proben entnommen und mit Säure versetzt, bis alles Kasein verdaut war und bei Säurezusatz eine Trübung nicht mehr auftrat. Der Zeitpunkt, in dem dies erreicht war, wurde notiert, dann kam die nächste Gruppe an die Reihe etc. Ich führe als Beispiel 2 Versuche an.

Versuch 2.

Glas Nr. (Gruppe)	In jedem Glas Kaseinlösung 1°/oo cc	In jedem Glas Trypsinlösung 1°/oo cc	Keine Trübung mehr nach	Bemerkungen
1.	10	0.1	48 Min. 10 Sek	Zu diesem Versuch wurde eine frisch bereitete Trypsinlösung benutzt
2.	10	0.2	23′ 55″	
3.	10	0.4	11′ 10″	
4.	10	0.8	5′ 55″	
5.	10	1.6	3′ 10″	

Versuch 3.

Glas Nr. (Gruppe)	In jedem Glas Kaseinlösung 1°/oo cc	In jedem Glas Trypsinlösung 1°/oo cc	Keine Trübung mehr nach	Bemerkungen
1.	10	0.2	52′ 40″	Die in diesem Versuche gebrauchte Trypsinlösung war 3 1/2 Tage alt und daher weniger wirksam
2.	10	0.4	26′ 20″	
3.	10	0.8	14′ 20″	
4.	10	1.6	7′ 25″	
5.	10	3.2	3′ 45″	

Diese Versuche zeigen uns auf das eklatanteste, wie beinahe mit mathematischer Genauigkeit die n-fache Menge Trypsin auch 1/n der Zeit benötigt, um dieselbe Menge Kasein zu verdauen. Natürlich sind bei dieser Versuchsanordnung Fehler, die Sekunden betragen, nicht zu vermeiden. Man muß ja die Reagenzgläser aus den im Brutschrank stehenden Bechergläsern nehmen, den Wattepfropf entfernen, Säure zusetzen etc. Daß hierbei Fehler entstehen, ist ganz natürlich. Aber sie sind in der Tat so gering, daß die umgekehrte Proportionalität von Zeit und Fermentmenge nicht geleugnet werden kann.

Mit derselben Genauigkeit beweist Versuch 4, daß bei gleichbleibender Fermentmenge die doppelte Zeit dazu nötig ist, um die doppelte Kaseinmenge zu verdauen resp. daß auch die Menge der Verdauungsprodukte der Fermentmenge nicht etwa deren Quadratwurzel proportional ist.

Bei dem Vergleich der Gläschen, deren Kaseinmengen in geradem Verhältnis zu einander stehen, also 1 und 6, 2 und 7, 3 und 8, sieht man ohne weiteres, daß Kaseinmenge und Zeit proportional sind. Man kann sich aber auch leicht davon überzeugen, wenn

Versuch 4.

Nr.	Kaseinlösung 1 o/oo cc	Trypsinlösung 1 o/oo cc	Auffüllflüssigkeit	Verdaut nach
1.	5	0.5	10	10′ 13″
2.	6	0.5	9	12′ 10″
3.	7	0.5	8	14′
4.	8	0.5	7	15′ 58″
5.	9	0.5	6	18′ 3″
6.	10	0.5	5	19′ 50″
7.	12	0.5	3	24′ 30″
8.	14	0.5	1	28′ 48″

man zwei beliebige Gläschen wählt. Die Kaseinmengen und die gefundenen Zeiten stehen immer in demselben Verhältnis. Wenn also, wie ich gezeigt habe, einerseits t (die Zeit der Einwirkung des Ferments) und f (die Fermentmenge) umgekehrt proportional sind, andererseits die Menge des verdauten Kaseins (c) und die Zeit der Einwirkung direkt proportional sind, so müssen auch c und f direkt proportional sein. Ich kann also auch mittelst meiner Methode das Versuchsresultat Volhards und Löhleins vollkommen bestätigen, daß die Verdauung durch Trypsin nicht dem Schütz-Borissowschen Gesetz folgt. Es verhalten sich die verdauten Kaseinmengen $c : c_1 = f.t : f_1.t_1$ oder $c = K.f.t$, wobei f die Fermentmenge, t die Zeit und K eine für jeden Saft verschiedene und für ihn charakteristische Konstante darstellt.

$$K = \frac{c}{f.t}$$

Diese Konstante drückt die Wirksamkeit des betreffenden Saftes aus. Als Beispiel für die Berechnung des Quotienten und die Bestimmung der Wirksamkeit des Trypsins führe ich die beiden folgenden Versuche an:

Versuch 5.

Nr.	Kaseinlösung 1% cc	Trypsinlösung 1°/oo cc	Bemerkungen
1	10	0.1	Die Trypsinlösung war zwei
2	10	0.2	Tage alt.
3	10	0.3	Alle Gläser waren auf 15 cc
4	10	0.4	aufgefüllt.
5	10	0.5	Nach 15′ gibt Glas 5 auf
6	10	0.6	Säurezusatz keine Trübung
7	10	0.7	mehr, Glas 4 gibt noch
8	10	0.8	leichte Trübung.
9	10	0.9	
10	10	1.0	
11	10	0.0	Blinder Kontrollversuch.

Versuch 6.

Nr.	Kaseinlösung 1% cc	Trypsinlösung 1‰ cc	Bemerkungen
1	10	0.1	Trypsinlösung frisch bereitet.
2	10	0.2	
3	10	0.3	Nach 15′ gibt Glas 3 auf
4	10	0.4	Säurezusatz keine Trübung
5	10	0.5	mehr, Glas 2 gibt noch
6	10	0.6	leichte Trübung.

Bei Versuch 5 waren in 900 Sekunden 10 cc Kaseinlösung durch 0,5 cc Trypsinlösung verdaut, bei Versuch 6 dieselbe Kaseinmenge in derselben Zeit durch 0,3 cc Trypsin. Es ist also

$$K = \frac{10}{0,5 \cdot 900} = 0,022$$

$$K = \frac{10}{0,3 \cdot 900} = 0,037.$$

Die Wirksamkeit beider Trypsinlösungen verhält sich also wie 22:37.

Da ich bei meiner Versuchsanordnung zur Bestimmung der Kraft des Pankreassaftes immer gleich bleibende Mengen Kasein, nämlich 10 cc, immer gleich lang, nämlich 15 Minuten, verdauen lasse, so hat es sich als einfacher und zweckmäßiger ergeben, die Einheit der tryptischen Kraft der Saftmenge beizulegen, die in 15 Minuten 10 cc Kaseinlösung so verdaut, daß auf Säurezusatz eine Trübung nicht entsteht.

1 cc der Lösung, die in Versuch 5 untersucht wurde, hätte nach dieser Definition die Stärke 2, 1 cc der Lösung in Versuch 6 die Stärke 3,3. Ob die Werte auf die eine oder andere Weise berechnet werden, bleibt sich natürlich bei der Bewertung gleich, da sie unter sich immer dasselbe Verhältnis zeigen (bei meinen 2 Versuchen 1,6).

Es bleibt nun noch der Nachweis übrig, daß meine Methode nicht nur zur Bestimmung „reiner" Trypsinlösungen, sondern auch zur Bestimmung der Wirksamkeit genuiner Pankreassäfte geeignet ist.

Um reinen Pankreassaft zu untersuchen, wurde der Saft mittels Kanüle einem Pankreasfistelhund entnommen. Der Saft (Versuch 7) war klar, enthielt aber geringe Mengen Blut, die zur Aktivierung dienen sollten; jedoch war diese Aktivierung sehr schwach; es spricht aber sehr für die Genauigkeit der Methode, daß trotz der sehr langen Versuchsdauer und der hierdurch natürlich vermehrten und multiplizierten Versuchsfehler auch hier Verdauungszeit und Fermentmenge proportional sind.

Versuch 7.

Nr.	Kaseinlösung	verdünnter Saft
1	10	0.05
2	10	0.1
3	10	0.2
4	10	0.3
5	10	0.4
6	10	0.6
7	10	0.8
8	10	1.0

Der Saft wurde auf das 10fache verdünnt. Nach 5 Stunden gibt Glas Nr. 8 gerade keine Trübung mehr. Bei der Kontrolle nach 48 Stunden nach Beginn gibt Glas 2 noch leichte Trübung, nach 51 Stunden bleibt dieses Glas klar auf Säurezusatz, hat also in der Tat ca. 10 mal so lang zur Verdauung gebraucht als Glas Nr. 8. Die Stärke des genuinen Saftes beträgt demnach für einen cc 0,5 Einheiten.

Versuch 8 gibt ein Beispiel für einen tryptisch sehr wirksamen Pankreassaft. Die Aktivierung geschah durch Zusatz von Darmsaft.

Versuch 8.

Nr.	Kaseinlösung 1‰ cc	verdünnter Saft
1	10	0.1
2	10	0.2
3	10	0.4
4	10	0.6
5	10	0.8
6	10	1.0
7	10	1.2
8	10	1.4

Saft aufs 10fache verdünnt, mit Darmsaft aktiviert. Nach 15' gibt Glas 6 keine Trübung mehr, Glas 5 gibt noch Trübung. Da der Saft aufs 10fache verdünnt war, betrug die Stärke des genuinen Saftes 10 Einheiten.

Ich möchte dann noch einen Versuch erwähnen, den ich mit dem Magensaft einer Patientin anstellte, die sich einige Zeit zuvor wegen eines Magencarcinoms einer Gastro-Enterostomie unterzogen hatte, und deren Mageninhalt Pankreassaft und mitunter Galle enthielt. Der Saft, mit dem der Versuch angestellt wurde, enthielt keine Galle. Der Saft reagierte schwach sauer und wurde mit einprozentiger Sodalösung neutralisiert.

Versuch 9.

Nr.	Kaseinlösung 1‰ cc	Magensaft cc	Verdauung beendet nach
1	10	0.05	60′
2	10	0.1	29′ 30″
3	10	0.2	14′ 40″
4	10	0.4	7′ 12″
5	10	0.8	3′ 31″

Also auch hier wird die Kaseinmenge von der n-fachen Fermentmenge in 1/n Zeit verdaut.

Die Stärke eines von derselben Patientin, aber an einem anderen Tage gewonnenen Magensaftes ergibt sich aus Versuch 10. In 15 Minuten wurde das Kasein von 0,07 cc Saft verdaut. Nach meinen obigen Ausführungen besitzt 1 cc des Saftes also eine Stärke von $\frac{1}{0,07}$ = 14,3 Einheiten, war also recht wirksam.

Versuch 10.

Nr.	Kaseinlösung 1‰ cc	Magensaft
1	10	0.05
2	10	0.1
3	10	0.2
4	10	0.3
5	10	0.4
6	10	0.5

Nach 15′ ist in Röhrchen 2 alles verdaut, Röhrchen 1 gibt auf Säurezusatz noch Trübung. Deswegen wird derselbe Versuch mit um je 0.01 cc steigenden Mengen von 0.05 bis 0.09 cc nochmals angestellt.

1a	10	0.05
2a	10	0.06
3a	10	0.07
4a	10	0.08
5a	10	0.09

Nach 15′ gibt Röhrchen 3a keine Trübung mehr, dagegen tritt in Röhrchen 2a noch Trübung auf.

Ich möchte noch erwähnen, daß sich meine Methode zur Bestimmung der Kraft des Pankreassaftes, wie er durch das Volhardsche „Ölfrühstück" beim Menschen gewonnen wird, nicht ohne weiteres eignet. Volhard hat gefunden, daß, wenn man nach Einführen von 200 cc Öl in den Magen nach ½ Stunde aushebert,

man einen Mageninhalt gewinnen kann, der aus dem eingeführten Öl und einer sich absetzenden „wässerigen, schleimigen, oft grünlich gefärbten Flüssigkeit" besteht, die das tryptische Ferment enthält. Die grünliche Farbe ist natürlich durch Gallenbeimischung bedingt. Durch Ausfallen der Gallensäuren kann schon allein durch Zusatz von Säure ein Niederschlag hervorgerufen werden, der um so stärker ist, je mehr Saft man zu dem Verdauungsgemisch zugesetzt hat. Es wäre nun wohl möglich, die Gallensäuren durch Zusatz von Alkohol zu der Probe nach der Verdauung, ehe man die Säure zufügt, in Lösung zu halten, doch glaube ich der quantitativen Bestimmung des nach Ölfrühstück gewonnenen Saftes einen Wert überhaupt nicht beilegen zu dürfen. Denn der Saft, dessen Wirksamkeit man bestimmt, ist eben kein Pankreassaft, sondern ein Gemisch aus Pankreassaft, Schleim, Darmsaft und vor allem Galle. Und da der Gehalt an Pankreassaft in diesem Gemisch unbekannt ist, so können quantitative Bestimmungen nicht vorgenommen werden. Anders steht es mit der qualitativen Bestimmung, wozu aber ein Stückchen coaguliertes Eiweiß oder eine Fibrinflocke genügt. Daß der nach Ölfrühstück gewonnene Saft dazu geeignet ist, die Gesetze der Trypsinwirkung zu studieren, wozu ihn Volhard benutzt hat, ist selbstverständlich.

VIII.

Arbeiten aus dem pharmakologischen Institut der deutschen Universität in Prag.

Die Wirkung und das Schicksal des Benzidins im Tierkörper.

Von

Dr. Oscar Adler, Assistenten des Instituts.

Das Benzidin, 4,4′ — Diamidodiphenyl, das im Jahre 1845 von Zinin (1) zum erstenmale dargestellt wurde, besaß längere Zeit fast ausschließlich theoretisches Interesse. Erst als Peter Grieß (2) mit Hilfe der von ihm entdeckten Diazotierung aus dem Benzidin — durch Tetrazotierung der Base und Kuppelung mit Naphtionsäure — das Kongorot erhielt, gewann das Benzidin für die Farbstoffchemie eine ganz außerordentliche Bedeutung. Seitdem ist eine ganze Reihe von Benzidinfarbstoffen dargestellt worden, so z. B. das Kongokorinth, Chrysamin, das Trypanrot, aus Benzidinderivaten das Benzopurpurin, Diaminblau, Benzazurin u. v. a. (3)

In neuerer Zeit haben eine Anzahl von Benzidinfarbstoffen für die Medizin eine praktische Bedeutung erlangt, namentlich im Kampfe gegen die durch Trypanosomen hervorgerufenen Krankheiten. Es ist das Verdienst Paul Ehrlich's (4), auf die trypaniciden Eigenschaften von Benzidinfarbstoffen hingewiesen zu haben. Auch Nicolle und Mesnil (5) haben die trypanicide Wirkung zahlreicher Abkömmlinge des Benzidins eingehend untersucht.

Zur Zeit, wo die Frage bezüglich der Wirksamkeit verschiedener Benzidinderivate — von denen viele in chemischer Hinsicht von der Ausgangssubstanz schon weit entfernt sind — Gegenstand umfassender Untersuchungen ist, scheint uns die Kenntnis der Wirkung und des Schicksals des Ausgangsstoffes im Organismus nicht ohne Interesse zu sein.

Erwähnen will ich auch, daß das Benzidin in neuerer Zeit in der Medizin zu diagnostischen Zwecken vielfach angewendet wird,

seitdem ich in Gemeinschaft mit Rudolf Adler (6) diesen Stoff als Reagens zum Nachweis von Blut angegeben habe. Zahlreiche Arbeiten von klinischer Seite (7) haben die Verwendbarkeit dieser Reaktion bestätigt, die darauf beruht, daß das Benzidin bei Gegenwart von Wasserstoffsuperoxyd auf Zusatz selbst minimaler Mengen von Blut unter Bildung eines intensiv gefärbten blauen bis blaugrünen Produktes reagiert. Die Reaktion gibt nach Schumm und Westphal selbst bei einer 200000 fachen Verdünnung des Blutes noch einen deutlichen Ausschlag.

Es schien nun von Interesse, zu erfahren, wie sich eine so außerordentlich reaktionsfähige Substanz wie das Benzidin im tierischen Organismus verhalten werde, zumal auf Grund einiger Versuche von Klingenberg (8) in der Literatur ganz allgemein die Anschauung verbreitet ist, daß eingeführtes Benzidin unverändert im Harn ausgeschieden wird. Es sind die Versuche Klingenberg's als eine Erweiterung der für Reaktionen in vitro aufgestellten Nölting'schen (9) Regeln angesehen worden in dem Sinne, daß Stoffe, die in der para-Stellung besetzt sind — also auch das Benzidin, bei dem die beiden Aminogruppen in der para-Stellung zu den Bindekohlenstoffen stehen — für den Tierkörper überhaupt unangreifbar seien. Es sei gleich vorweggenommen, daß wir auf Grund unserer Versuche die allgemeine Gültigkeit dieser Anschauungen nicht bestätigen können.

Der leichteren Orientierung halber seien hier einige der wichtigsten Eigenschaften des Benzidins angeführt: Das Benzidin, $NH_2C_6H_4-C_6H_4NH_2$, bildet, aus siedendem Wasser umkristallisiert, eine silberglänzende, aus zusammenhängenden Plättchen bestehende Masse. F (corr): 127·5—128°. Es ist leicht löslich in Alkohol und Aether, schwer in kaltem, leicht in siedendem Wasser. Der Geschmack der Lösungen ist „bitter alkalisch und stark pfefferartig beißend" (10). Die salzsaure Verbindung ist leicht löslich in mit wenig Salzsäure angesäuertem Wasser.

Die sehr verdünnte alkoholische Lösung von Benzidin gibt mit Eisenchlorid eine vorübergehende prächtige Grünfärbung. Lösungen von Benzidin in Schwefelkohlenstoff, Chloroform oder Aether geben mit Bromwasser einen Niederschlag von tief dunkelblauer Farbe. Benzidin wird bei einem großen Überschuß von Bromwasserstoffsäure durch Brom fast quantitativ in das sehr voluminöse Tetrabrombenzidin (F = 284—286°) umgewandelt (11). Dieser Stoff läßt

sich durch Sublimation leicht reinigen und kann, wie wir uns überzeugten, zum Nachweis von Benzidin im Harn verwendet werden. Im allgemeinen ist zum Nachweis und zur quantitativen Bestimmung das äußerst schwer lösliche Sulfat gut geeignet.

Das für die nachfolgenden Versuche verwendete Benzidin wurde als Benzidinum purissimum Merck bezogen. Nach dem Umkristallisieren aus siedendem Wasser war F (corr) = 127°; N = 15·2 Proz. (Ber. 15·2 Proz.) Ein daraus dargestelltes, durch Sublimation gereinigtes Tetrabrombenzidin schmolz bei 283°. — Das verwendete Präparat war somit als völlig rein zu bezeichnen.

Wirkung des Benzidins auf den Tierkörper.

Die Wirkung des Benzidins ist je nach den zum Versuche gewählten Tierarten eine verschiedene. Wir haben insbesondere die Wirkung auf den Hund und das Kaninchen einer eingehenden Untersuchung unterzogen, daneben noch Versuche an der Katze, am Huhn und schließlich noch eine Versuchsreihe am Frosch durchgeführt. Um ein möglichst einheitliches Bild der Wirkung zu bekommen, mußte die Zahl der Versuchstiere eine ganz beträchtliche sein; so hat es sich zur Feststellung der Wirkung kleinerer Mengen des Stoffes namentlich beim Kaninchen als notwendig erwiesen, Versuche an Tieren verschiedenster Herkunft anzustellen. Es können merkwürdigerweise mitunter Tiere eines kräftigen, gut genährten Wurfs gegen dieselbe Dosis viel weniger widerstandsfähig sein, als kleinere schwächlichere Tiere eines anderen Wurfs.

Klingenberg, der 2 Versuche mit Benzidin an Hunden ausgeführt hat, fand das Befinden der Tiere nach der Fütterung völlig normal und spricht von einer „in keiner Weise giftigen Wirkung der Substanz."

Unsere Versuche am Hunde nahmen im allgemeinen folgenden Verlauf: einem mittelgroßen Hunde wurden mittels Magensonde 1—3 g fein gepulvertes Benzidin in Wasser suspendiert oder in verdünnter alkoholischer Lösung eingeflößt oder als salzsaures oder milchsaures Benzidin per os oder subkutan gegeben. Gewöhnlich merkt man nun — abgesehen von einem primären Erbrechen, welches bei stomachaler Eingabe selbst indifferenter Stoffe nach dem Herausziehen des Magenschlauches auftreten kann, — wodurch mancher Versuch mißlingt — an dem Tiere im Verlaufe der nächsten Stunden nichts Auffälliges. Plötzlich kommt es (manchmal erst einige Stunden nach der Eingabe) zu einem heftigen und ausgiebigen Erbrechen. Dieses Erbrechen ist insofern von Bedeutung, als mit demselben noch

im Magen vorhandene Mengen des Stoffes entleert werden können und andererseits dadurch, daß es die bereits begonnene Resorption anzeigt. Das Erbrechen tritt nämlich nicht nur bei stomachaler Eingabe ein, sondern auch nach subkutaner Injektion. Schon vorher bemerkt man an dem Tiere eine gewisse Unruhe, gewöhnlich aber schließt sich erst an den Eintritt des Erbrechens das charakteristische Bild der Benzidinvergiftung an.

Es treten nun ganz eigenartige Bewegungen im Bereiche des Kopfes auf, die darin bestehen, daß der Kopf gleichmäßig nach rechts und links, dazwischen nach oben und unten bewegt wird und zwar derart, daß Bewegungen resultieren, die man ihrer Form nach am besten als Achtertouren bezeichnen könnte. Diese Kopfbewegungen können bisweilen selbst stundenlang andauern. Gleichzeitig beobachtet man an dem Tiere kontinuierliche trippelnde oder tänzelnde Bewegungen, namentlich an den vorderen Extremitäten. Dieses Stadium der Unruhe kann mitunter eine ganz außerordentliche Höhe erreichen, sodaß das Tier das Bild exzessivster motorischer Erregung darbietet. Diese Erregung erinnert in manchen Punkten an das Exzitationsstadium bei der Vergiftung mit Cocain. Zuweilen haben wir auch heftige Laufbewegungen des in Seitenlage befindlichen Tieres oder tonische Krämpfe beobachtet. Schließlich tritt ein Zustand der Ermüdung und Erschlaffung ein, in dem die Tiere nach einiger Zeit (manchmal erst nach mehreren Tagen) zugrunde gehen, andererseits kann aber auch Wiederherstellung zur Norm eintreten.

Diese ganz allgemein gehaltene Schilderung der Erscheinungen soll nun durch die nachfolgende Anführung einer Anzahl von Versuchen im speziellen ergänzt werden. Wir führen einstweilen nur die Allgemeinwirkungen an, da die übrigen Befunde (Harn-Blut-Sektionsbefund) weiter unten im Zusammenhange besprochen werden.

Versuch 1. Weißer Hund 4500 g.

16. XII. 06 1/2 12 Uhr vorm. 1 g Benzidin in 50 cc 4 proz. Milchsäure gelöst per os. 12 Uhr Erbrechen. 1/2 1 Uhr pendelnde Kopfbewegungen. Rectaltemperatur 37,6° (normale Temperatur des Tieres um 1/2 12 Uhr: 38,7°). 1 Uhr Seitenlage. Laufbewegungen, zeitweilig tonische Krämpfe. Starke Salivation. Temperatur 36,9°. 4 Uhr Unruhe. Kontinuierliche Kopfbewegungen. Keine Salivation. Keine Dyspnoe. Respiration: [illegible]7 (1 Minute). Temperatur 38,8°. 5 Uhr Unruhe läßt langsam nach.

17. XII. 06. In der Nacht auf heute exitus letalis.

Versuch 2. Brauner Spitz. 5000 g. Der Hund wurde aus Gründen, die im Abschnitt „Veränderungen des Harns" erörtert werden, nach achttägigem Hungern zum Versuch genommen; das Gewicht am 1. Versuchstage 3640 g.

23. X. 06 5 Uhr 45 nachm. 2 g. Benzidin in 80 cc Wasser susndiert per os. $^1/_4$ 8 Uhr. Erbrechen. Andauernde Übelkeit. Beginn r Unruhe. 12 Uhr 35 nachts. Unruhe. Andauernde Bewegungen s Kopfes (Achtertouren). Trippelnde Bewegungen der Vorderfüße.

25. X. 06. Das Tier zeigt keine Symptome.

26. X. 06. 11. Hungertag. Keine Symptome. Gewicht 3300 g. Uhr mittag. 2 g. Benzidin per os. $^3/_4$ 2 Uhr. Beginn der mo:ischen Unruhe. Charakteristische Kopfbewegungen, trippelnde Be›gungen der Vorderbeine. An den hinteren Extremitäten leichte ıskuläre Zuckungen. 4 Uhr. Andauernde Unruhe. $^1/_2$ 7 Uhr. Zuınd wie 4 Uhr. Keine Dyspnoe.

27. X. Das Tier verhält sich völlig ruhig; keine Symptome.

28. X. Das Tier liegt meist zusammengekauert; keine besonderen 'mptome. $^3/_4$ 11 Uhr vorm. 2 g Benzidinum hydrochloricum per os. ıch dem Herausziehen der Schlundsonde erfolgt Erbrechen, wobei ein :il der Substanz entleert wird. $^1/_2$ 12 Uhr. Motorische Unruhe; Erheinungen ähnlich wie am 26. X. $^3/_4$ 1 Uhr. Erbrechen. 4 Uhr. ıs Tier ist wieder völlig ruhig.

29. X. Das Tier liegt ruhig, zusammengekauert.

31. X. In der Nacht auf heute exitus letalis. Gewicht des toten eres 2790 g.

Versuch 3. Dackel 4740 g.

17. X. 06 Uhr nachm. 1 g Benzidin suspendiert in ca. 50 cc 4 proz. kohol per os. 6 Uhr. Erbrechen. $^1/_2$ 7 Uhr. Erbrechen, andauernde ›elkeit. $^3/_4$ 7 Uhr Erbrechen. Große Unruhe. Ununterbrochene tänlnde Bewegungen der Vorderbeine. Die hinteren Extremitäten scheinen cht paretisch. $^1/_2$ 8 Uhr. Andauernde Bewegungen der Vorderbeine. :ine Dyspnoe. 8 Uhr wie $^1/_2$ 8.

18. III. Der Hund zeigt keine Erscheinungen.

20. III. Während der Nacht auf heute exitus letalis. Gewicht des lten Tieres 3630 g.

Für die subkutane Applikation wurde, da das Benzidin im Wasser d in verdünntem Alkohol schwer löslich ist, das salzsaure oder lchsaure Benzidin verwendet; freilich läßt sich dabei die lokale :tzwirkung der sauer reagierenden Lösung nicht umgehen.

Versuch 4. Kleiner brauner Bastardhund. 3770 g.

29. III. 06. 4 Uhr 10 nachm. 2,4 g salzsaures Benzidin in 60 cc asser und 2 gtt HCl subkutan injiziert. 4 Uhr 45, 5 Uhr 30, 6 Uhr 30, Uhr 20, Erbrechen. 7 Uhr 20. Unruhe (wie früher beschrieben).

30. III. In der Nacht auf heute exitus letalis.

Versuch 5. Weißer, kurzhaariger Spitz. 5120 g.

11 Uhr 20 vorm. 3 g salzsaures Benzidin in 65 cc Wasser und HCl subkutan injiziert. 12 Uhr 15. Übelkeit, Unruhe. 12 Uhr 45. ›rechen, Unruhe, Salivation. 1 Uhr. Erbrechen. Heftigste Aufregung. ıpiration etwas beschleunigt. 1 Uhr 10. Andauernde Bewegungen des ›fes und der Vorderbeine. 1 Uhr 20. Erbrechen; sonst wie 1 Uhr 10.

4 Uhr 15. Seitenlage. Laufbewegungen. Rotationsbewegungen des Kopfes. 4 Uhr 20. Die Bewegungen haben etwas nachgelassen. Dyspnoe. 5 Uhr 30. Seitenlage. Laufbewegungen, zeitweilig tonische Krämpfe besonders der hinteren Extremitäten. 7 Uhr. Andauernde Laufbewegungen. 9 Uhr. Es tritt allmählich Beruhigung ein. 10 Uhr. Exitus letalis.

Versuch 6. Schwarze Hündin. 4980 g.

13. III. 06. 1/46 nachm. 2 g Benzidin in ca 60 Wasser und 3 gtt HCl subkutan injiziert. 6 Uhr 30. Erbrechen; tänzelnde Bewegungen der Vorderbeine. 6 Uhr 45. Erbrechen. Bewegungen dauern an. 7 Uhr, 7 Uhr 15. Erbrechen. 7 Uhr 45. Unruhe, leichte Dyspnoe.

14. III. 06. In der Nacht auf heute exitus letalis.

Da die übrigen Versuche im Prinzip ähnlich verliefen, kann eine weitere Anführung derselben unterbleiben. Bemerkt sei, daß in einer Anzahl von Versuchen auch nach relativ großen Dosen die Tiere keine äußere Wirkung zeigten.

Es schien uns ferner von Interesse, namentlich mit Rücksicht auf eine etwaige therapeutische Verwendung des Benzidins oder ihm nahestehender Derivate, die Wirkung von kleineren aber kontinuierlich gereichten Gaben kennen zu lernen.

Versuch 7. Weißer Bastardhund. 6600 g.

Von 2. III. 07 bis incl. 22. III. tgl. 0,2 g Benzidin mit dem Futter.

22. III. 07. Gewicht 6520 g. Das Tier befindet sich völlig wohl. Im Harn kein Eiweiß, kein Zucker.

Vom 22. III. bis incl. 11. IV tgl. 0,3 g Benzidin mit dem Futter.

14. IV. 07. Gewicht 6100 g. Völliges Wohlbefinden. Im Harn kein Eiweiß, kein Zucker.

Im Ganzen erhielt der Hund also innerhalb 40 Tagen 10 g Benzidin mit dem Futter zugeführt. Außer einer leichten Gewichtsabnahme war an dem Tier nichts Pathologisches zu bemerken, es zeigte auch in der weiteren Beobachtungszeit ein normales Verhalten.

Kurze Zusammenfassung: das Benzidin bewirkt beim Hunde in entsprechenden Gaben Übelkeit und Erbrechen, motorische Unruhe, die sich zu hohen Graden steigern kann und namentlich durch eigenartige, typische Bewegungen des Kopfes und der vorderen Extremitäten charakterisiert wird. Kleine Gaben verträgt der Hund durch längere Zeit ohne Schaden.

Das Kaninchen (wir verwendeten stets Hafertiere) reagiert selbst auf größere Dosen viel seltener mit wahrnehmbaren, äußeren Symptomen. Gewöhnlich gehen die Tiere subakut zugrunde, ohne daß man etwas Auffälliges wahrnimmt; in agone beobachtet man allerdings nicht selten Unruhe, Bewegungsdrang und gesteigerte Reflexerregbarkeit.

Vielleicht liegen die Resorbtionsverhältnisse für die freie Benzidinbase — das Benzidin wurde gewöhnlich in wässeriger Suspension verfüttert — hier ungünstiger als beim Hunde. Andererseits ist es ja bekannt, daß Kaninchen auch gegenüber anderen sonst leicht resorbierbaren giftigen Stoffen eine auffallend hohe Resistenz zeigen. Überdies sind die sinnfälligen äußeren Symptome gar kein Maß für die inneren pathologischen Veränderungen; so können bei einem Benzidinkaninchen äußere Symptome völlig fehlen, während der Harn, das Blut, Knochenmark hochgradige Veränderungen aufweisen. Wird das Benzidin in geeigneten Vehikeln z. B. in alkoholischer Lösung gegeben, so kann es mitunter zu ausgeprägten äußeren Erscheinungen kommen.

Versuch 8. Kaninchen. 1070 g.

1. III. 06. 0,4 g Benzidin in 4 cc 96 proz. Alkohol mit Schlundsonde eingeflößt, hierauf sofort 20 cc Wasser nachgespült. 3 Uhr 30. Muskelflimmern im Bereiche des Kopfes; die Vorderfüße leicht paretisch. 6 Uhr Rasselnde Atmung. Der Kopf hängt schlaff herab. 7 Uhr. Temperatur 31°. Im Laufe der Nacht exitus letalis.

Versuch 9. Kaninchen. 1380 g.

8. III. 06 12 Uhr 30 nachm. 1 g Benzidin in 5 cc 96 proz. Alkohol mit Schlundsonde eingeflößt und sofort 20 cc Wasser nachgespült. 1 Uhr. Erschwerte Atmung. Das Tier ist sehr dekrepid, bleibt in jeder beliebigen Lage liegen. Temperatur 39,2°. Respiration 42 in 15 Sek. Puls 10 in 10 Sek. (Vor dem Versuche Temperatur 40°, Respiration 37 in 15 Sek. Puls 13 in 10 Sek.). 3 Uhr 40. Das Tier ist paretisch, leichte Zuckungen des Kopfes. Temperatur 37,4°. Respiration 24 in 15 Sek. Puls 10 in 16 Sek. 6 Uhr 30. Rasselnde Atmung. Während der Nacht exitus letalis.

Kontrollversuch wegen der Alkoholwirkung.

Versuch 10. Kaninchen. 1300 g.

12 Uhr 40 nachm. 5 cc 96 proz. Alkohol per os, hernach sofort 20 cc Wasser nachgespült. 1 Uhr. Das Tier zeigt leichte Schläfrigkeit, es strampelt nicht beim Aufheben, in eine ungewöhnliche Lage gebracht richtet es sich, wenn auch etwas träge, doch auf. Temperatur 38,4. (Vor dem Versuch 39,2.) 4 Uhr 30. Das Tier zeigt keine pathologischen Erscheinungen, ebenso in der weiteren Beobachtungszeit.

Über die Größe der Giftwirkung des Benzidins für das Kaninchen, namentlich aber über die verschiedene Resistenz der einzelnen Tiere, sollen die folgenden Daten Aufschluß geben.

Versuch 11. Es wurden an 32 Kaninchen täglich (mit Ausnahme von Sonntagen) je 0,4 g Benzidin in 20 cc Wasser suspendiert mittelst Schlundsonde verfüttert. Das Gewicht der verwendeten Tiere schwankte zwischen 2400 und 1350 g. Das Gesamtgewicht betrug 56,440 g; demnach das Durchschnittsgewicht eines Tieres 1763 g.

Von diesen Tieren gingen zugrunde:

Nach	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	15	16	17	18 Tagen
	3	6	2	5	1	3	1	1	1	3	1	1	1	1	2

Wie man aus diesen Daten ersehen kann, bestehen bezüglich der giftigen Wirkung des Benzidins für das Kaninchen große individuelle Verschiedenheiten. Während 3 Tiere schon nach 0,4 g, 6 Tiere nach 0,8 g zugrunde gingen, konnten an 2 Tieren 7,2 g allmählich verfüttert werden. Dazu muß noch bemerkt werden, daß das leichteste Tier (1350 g) erst nach dem 11. Tage (also nach Verfütterung von 4,4 g Benzidin), das schwerste Tier (2400 g) nach 9 Tagen (3,6 g Benzidin) zugrunde ging.

Auf den Frosch wirkt das Benzidin bei Resorbtion vom Lymphsacke aus zentral lähmend.

Sehr widerstandsfähig gegenüber dem Benzidin scheint das Huhn zu sein; so erhielt ein 1860 g schwerer Hahn innerhalb 5 Tagen 2,9 g Benzidin per os, ohne daß irgend welche Störungen an dem Tiere wahrnehmbar waren.

Harnbefund.

Der Harn der Benzidintiere bietet, im ganzen betrachtet, ein charakteristisches Gepräge dar. Wir haben namentlich folgende Befunde erhoben.

1. Glykosurie beim Hunde.
2. Einen eigenartigen Blutbefund im Kaninchenharn.
3. Vorkommen abnormer Farbstoffe.
4. Vorkommen eines charakteristischen Benzidinderivates. (siehe pag. 90 ff.)

Der frisch entleerte Harn nach Benzidinfütterung zeigte stets saure Reaktion. Von abnormen Bestandteilen waren Aceton und Acetessigsäure nicht nachweisbar. Auch zeigte der Jndicangehalt keine wesentliche Abweichung von der Norm. Eiweiß fanden wir beim Hunde mehrmals in geringer Menge, in einigen Fällen kam es sogar zu ganz beträchtlicher Eiweißausscheidung. In einer ganzen Anzahl von Versuchen war Eiweiß überhaupt nicht nachweisbar. Beim Kaninchen, wo es nach größeren Dosen zu Haematurie kommt, fanden sich ebenfalls nur Spuren von Eiweiß. Dies ist deshalb bemerkenswert, weil bei gewissen, dem Benzidin nahestehenden Stoffen, z. B. Tolidin, gerade die Schädigung der Niere in den Vordergrund tritt.

Benzidinglykosurie. Die Zahl der bisher bekannten Stoffe, die Glykosurie herbeiführen können, ist eine ganz bedeutende.

Immerhin ist aber zu unterscheiden, ob bei Eingabe eines Stoffes nur unerhebliche Mengen von Dextrose, gleichsam als Nebenbefund auftreten, oder ob die Eingabe eines Stoffes eine ganz beträchtliche Zuckerausscheidung und zwar innerhalb bestimmter Grenzen unabhängig vom Ernährungszustande, also auch im Hunger, zur Folge hat.

Die Eingabe von Benzidin führt beim Hunde fast regelmäßig eine ganz beträchtliche Zuckerausscheidung herbei. Nur in einigen wenigen Fällen (3 Fälle) haben wir dieselbe vermißt. Vielleicht lassen sich so die beiden Versuche von Klingenberg erklären, der überhaupt nach Eingabe von Benzidin nichts Auffälliges beobachtete und dadurch zu der irrtümlichen Auffassung gelangte, das Benzidin wäre ein indifferenter Stoff und für den Tierkörper völlig unangreifbar.

Es seien nun im folgenden einige unserer auf die Benzidinglykosurie bezüglichen Befunde angeführt.

Zu Versuch 6. Schwarze Hündin 4980 g. 2 g salzsaures Benzidin subkutan. Harnmenge bis zum exitus 100 cc. Reduktion und Gärung ntensiv. Polarisation ergibt 5,1 Proz. Dextrose. Im ganzen wurden ausgeschieden: 5,1 g Dextrose.

Zu Versuch 4. Kleiner brauner Bastardhund 3770 g. 2,4 g salzsaures Benzidin subkutan. Harnmenge bis zum exitus. 125 cc Reduktion und Gärung intensiv. Polarisation: 0,9 Proz. Dextrose. Ausgeschieden wurden also 1,1 g Dextrose. Nach der Vergärung ist der Harn inaktiv.

Zu Versuch 5. Weißer kurzhaariger Spitz. 3 g salzsaures Benizdin subkutan. Harnmenge (bis zum exitus): 70 cc Polarisation 3,1 Proz. Dextrose. Ausgeschieden: 2,1 g Dextrose.

Versuch 12. Junger Hund 3700 g. 2 g Benzidin in 50 cc Wasser suspendiert per os. Harnmenge: 166 cc. Reduktion und Gärung deutlich. Polarisation: vor der Vergärung + 14,2 Min., nach der Vergärung — 16,8 Min. Demnach entfällt für rechtsdrehenden, vergärbaren Zucker: + 31 Minuten, entspr. 0,99 Proz. Dextrose. Ausgeschieden wurden demnach 1,6 g Dextrose.

Um den Einfluß des Ernährungszustandes auf die Benzidinglykosurie kennen zu lernen, wurde folgender Hungerversuch ausgeführt.

Zu Versuch 2. Brauner Spitz 5000 g. Nach achttägigem Hungern betrug das Gewicht: 3640 g.

23. X. 06. $^3/_4$6 Uhr nachm. 2 g Benzidin in 80 cc Wasser suspendiert per os. Der bis 12 Uhr 35 nachts ausgeschiedene Harn war zuckerfrei. Harnmenge (von 12 Uhr 35 nachts bis 9 Uhr früh): 50 cc. Reduktion und Gärung intensiv. Polarisation: 2,9 Proz. Dextrose. Demnach ausgeschieden: 1,4 g Dextrose. Aus dem Harn wurde ein Osazon F = 200^0 dargestellt.

26. X. 06. (11. Hungertag). 2 g Benzidin per os. Nächster Harn zuckerfrei.

Trotz 8tägigen Hungerns war die Zuckerausscheidung in unverminderter Weise erfolgt. Eine zweite Darreichung von Benzidin am 11. Hungertage führte nicht zur Glykosurie; freilich war das Tier schon ungemein herabgekommen.

Um zu erfahren, ob die Benzidinglykosurie durch gleichzeitig dargereichte Kohlehydrate etwa gesteigert werde, wurde einem Hunde am Vortage und am Versuchstage je 20 g Dextrose gereicht. 20 g Dextrose führten, wie der Harnbefund vom Vortage zeigt, spontan zu keiner Dextroseausscheidung.

Versuch 13. Brauner Huud 6940 g.

8. XI. 1/2 7 Uhr nachm. 20 g Dextrose in 60 cc Wasser gelöst per os.

9. XI. Harnmenge (bis 10 Uhr vorm.): 126 cc. Polarisation: — 12 Min. 4 Uhr nachm. 2,7 g Benzidin, 20 g Dextrose in 65 cc Wasser per os.

10. XI. Harnmenge (bis 9 Uhr früh) 215 cc. Polarisation: + 17,6 Min. Nimmt man als Normaldrehung des Harns die des Vortages an, so berechnet sich eine Rechtsdrehung von: 29,6 Min. entspr. 0,95 Proz. Dextrose. Demnach sind mit 215 cc Harn 2 g Dextrose ausgeschieden worden.

Da die Möglichkeit nicht sicher auszuschließen war, daß bei dem 2 Stunden nach der Eingabe erfolgten Erbrechen etwa doch geringe Mengen des Erbrochenen in den Harn gelangt wären, wurde, um dies sicher auszuschließen, in dem folgenden Versuche sogleich nach der Eingabe des Benzidins und der Dextrose der Oesophagus des Tieres unterbunden.

Versuch 14. Hund 5670 g.

22. XI. 4 Uhr 30. 30 g Dextrose in 50 cc Wasser suspendiert per os.

23. XI. Harnmenge (bis 9 Uhr früh): 245 cc. Polarisation: — 20,1 Min. 5 Uhr nachm. 1 g Benzidin, 30 g Dextrose in 60 cc Wasser per os. Hierauf sofort nach Herausnahme des Magenschlauches Unterbindung des Oesophagus am Halse.

24. XI. 5 Uhr nachm. exitus letalis. Harnmenge 99 cc. Polarisation: + 46,2 Min. Nimmt man als Normaldrehung des Harns die Linksdrehung des Vortages an, so berechnet sich für Dextrose eine Drehung von: + 66,3 Min. entspr. 2,1 Proz. Dextrose. Es werden demnach ausgeschieden 2 g Dextrose.

Aus diesen Versuchen ergibt sich, daß selbst relativ große Mengen zugeführten Traubenzuckers eine wesentliche Steigerung der Benzidinglykosurie nicht bedingen.

In dem folgenden Versuche wurde gleichzeitig mit dem Benzidin Antipyrin gereicht. Dem Antipyrin soll nach Lépine, Porteret, Nebelthau ein konservierender Einfluß auf das Glykogen der Leber zukommen, nach P. F. Richter ein hemmender Einfluß auf die Koffeïnglykosurie, nach Lée und Gley auf die Phlorhidzinglykosurie. (12)

Versuch 15. Junger Hund 4050 g.

12. XI. 06. 1 g Antipyrin, 2 g Benzidin in 60 cc Wasser per os.

13. X. Harnmenge 210 cc. Polarisation: — 25 Min. Trotz der mangelnden Rechtsdrehung zeigte der Harn kräftige Reduktionsfähigkeit und mit Hefe deutliche Gärung.

Es wurde nun der Harn vergären gelassen und hernach unter Berücksichtigung der Verdünnung wiederum polarisiert. Polarisation (nach der Vergärung): — 39,4 Min. Die Differenz zwischen beiden Polarisationswerten muß auf Traubenzucker bezogen werden: 14 Min. entspr. 0,4 Proz. Dextrose.

Mit 210 cc Harn wurden demnach 0,8 g Dextrose ausgeschieden.

Es scheint tatsächlich in diesem Versuche eine Herabsetzung der sonst im Harne ausgeschiedenen Zuckermenge erfolgt zu sein. Bemerkenswert ist, daß durch die starke Linksdrehung des Harns (13) der tatsächlich vorhandene Zucker (0,4 Proz.) leicht hätte übersehen werden können.

Schließlich sei noch ein Versuch an der Katze angeführt.

Versuch 16. 27. XI. 06. 0,5 g Benzidin in wässeriger Suspension per os. Hierauf Unterbindung des Oesophagus am Halse.

28. XI. Während der Nacht auf heute lebhafte Unruhe; keine Dyspnoe. Am Morgen wurde das Tier tot aufgefunden. Harnmenge 52 cc. Starke Reduktion. Polarisation: + 46 Min. entspr. 1,4 Proz. Dextrose.

Es wurden also mit 52 cc Harn 0,72 g Dextrose ausgeschieden.

Demnach reagiert auch die Katze auf Darreichung von Benzidin mit Glykosurie. —

Mit Rücksicht auf die zahlreichen Fälle von Erstickungsglykosurie (Hoppe-Seyler, Araki) sei hervorgehoben, daß während der Intoxikation Respirationsstörungen im allgemeinen nicht beobachtet wurden. Nur in wenigen Fällen von exzessiver motorischer Unruhe war eine Beschleunigung der Respiration zu konstatieren. Oft ist die Glykosurie das einzige in vivo wahrnehmbare Symptom der Vergiftung!

Auch beim Kaninchen erfährt der Kohlehydratstoffwechsel namentlich bei Darreichung größerer Dosen (1—1,5 g) eine Änderung. Ganz kurz ausgedrückt liegen die Verhältnisse beim Kaninchen folgendermaßen: hier kommt es in einer Anzahl von Fällen nach großen

Dosen ebenfalls zum Auftreten von Dextrose im Harn; doch sind die Mengen gegenüber den beim Hunde betrachteten äußerst gering und der Zucker ist durch direkte polarimetrische Untersuchung überhaupt nicht weder nur durch Gährung nachweisbar. Kaninchenharn dreht schon von vornherein häufig links, hier aber kommt noch ein weiterer Umstand hinzu, nämlich der, daß nach Verfütterung mit Benzidin ein linksdrehender Stoff im Harn erscheint, der sich nach den Reaktionen als Glykuronsäure charakterisiert. Die Mengen derselben waren aber nicht groß genug, als daß eine Isolierung Erfolg gehabt hätte, und wir mußten uns deshalb mit dem indirekten Nachweise begnügen.

Versuch 17. Hasenfarbenes Kaninchen 2320 g.

4. XI. 06. 1,5 g Benzidin in 45 cc Wasser suspendiert per os.

5. XI. 06. Harn: Reaktion sauer, Farbe auffallend dunkelbraun. Starke Reduktionsfähigkeit, Gärung negativ. Polarisation: — 52 Min. Drehung nach dem Erhitzen mit verd. H_2SO_4 unter Berücksichtigung der Verdünnung: + 10,8 Min.

Die Differenz der Drehung gegenüber dem nativen Harn beträgt also: 1° 2,8′. Orcinprobe: positiv; Seliwanoffsche Probe auf Levulose: negativ. Bemerkt sei, daß der Harn schon vor der Spaltung mit H_2SO_4 reduzierte.

Versuch 18. Weiß-schwarzes Kaninchen 2620 g.

5. XI. 06. 1 g Benzidin in Wasser suspendiert per os.

6. XI. Harn 60 cc, schwarzbraun, deutlich reduzierend. Aus 40 cc Harn wurden, nach Klärung mit neutr. Bleiacetat und Entfernung des Bleies mit H_2S, 0,19 g eines Osazons gewonnen. *F* (des Rohosazons) 163—165°. *F* (nach dem Umkristallisieren aus heißem Wasser) 170°.

Polarisation des Harns: — 34,8. Orcinprobe: positiv.

Die quantitative Bestimmung des Blutzuckergehaltes am vergifteten Hund bei bereits eingetretener Zuckerausscheidung durch den Harn ergab mir in zwei Fällen keine Vermehrung; in dieser Hinsicht ist somit die Benzidinglykosurie der Phlorizinglykosurie analog.

Blutbefund im Kaninchenharn. Ganz regelmäßig kommt es beim Kaninchen nach Zufuhr größerer Dosen Benzidin (je 1 g an 2 bis 3 aufeinanderfolgenden Tagen) zum Übergang roter Blutkörperchen in den Harn. Die Blutkörperchen sind gewöhnlich so massenhaft vorhanden, daß bei der mikroskopischen Untersuchung des braunen, schlammigen Sedimentes fast das ganze Gesichtsfeld davon erfüllt ist. Diese Blutkörperchen zeigen nun ein so eigenartiges Verhalten, daß wir eine eingehendere Untersuchung derselben für erforderlich hielten.

Schon die morphologische Beschaffenheit derselben war auffallend. Sie erwiesen sich nämlich nicht als blaßgelbe, homogene Scheiben,

wie man sie gewöhnlich bei Blutungen im Harn sieht, sondern sie waren von braungelber Farbe, zumeist doppelt konturiert, fast alle zeigten im Innern ein stark lichtbrechendes Körnchen, das gewöhnlich exzentrisch gelagert war, manchmal auch in der Mitte, seltener dem Blutkörperchen außen aufsitzend.

Derartig veränderte Blutkörperchen sind im kreisenden Blute nach Verbrennungen und Verbrühungen, besonders aber nach Darreichung von Blutgiften von Heinz, Marchand, Rieß (14) und anderen Forschern beschrieben und genau studiert worden. Das regelmäßige und massenhafte Vorkommen solcher degenerierter Blutkörperchen als Harnsediment scheint bisher noch nicht beobachtet zu sein. So schreibt Marchand in seiner Arbeit „Über die giftige Wirkung der chlorsauren Salze“: „Ich bemerke nur soviel, daß es sich stets und in allen Fällen [cfr. bei den Chloraten] um eine reine Haemoglobin- (resp. Methaemoglobin-) Ausscheidung handelt und nie um Haematurie. Allerdings sind zahlreiche Verwechselungen zwischen den eigentümlich körnigen, tropfenartigen, glänzenden Gebilden in Harnkanälchen und Urin vorgekommen . . .“

Eine derartige Verwechselung ist in unserem Falle aus zweifachen Gründen völlig auszuschließen. Erstens veranlaßte uns dieser Befund im Harn, sogleich auch das Blut des lebenden Tieres zu untersuchen, woselbst wir dieselbe Veränderung an den Blutkörperchen wahrnehmen konnten. Ein weiteres ganz sicheres Moment zur Identifizierung bot die chemische Untersuchung.

Bevor wir aber darauf eingehen, möchten wir auf ein ganz eigentümliches Verhalten der im Harnsedimente vorkommenden Blutkörperchen die Aufmerksamkeit lenken. Während nämlich normale Blutkörperchen ihren Farbstoff an Agentien, z. B. destilliertes Wasser, sogleich abgeben, war das hier nicht der Fall; die Blutkörperchen verhielten sich völlig resistent und gaben auch nicht eine Spur ihres Farbstoffes an destilliertes Wasser ab. Wenn man reichliche Mengen dieser Blutkörperchen zur Entfernung etwa anhaftender löslicher Salze auf der Zentrifuge mehrmals mit destilliertem Wasser auswusch, so ließ sich im Waschwasser gelöster Blutfarbstoff niemals nachweisen, sondern der Farbstoff haftet nach wie vor an den Blutkörperchen. Der Farbstoff ließ sich auch durch stärker wirkende Agentien, wie Saponin- oder Solaninlösungen von den Blutkörperchen nicht trennen, auch nicht nach vorheriger Zertrümmerung der Blutkörperchen durch Zerreiben mit Schmirgel. Die Blutkörperchen erscheinen also in gewissem Sinne gleichsam als „fixiert“ oder „gehärtet“.

Werden die Blutkörperchen durch scharfes Zentrifugieren aus dem Harn entfernt, so gibt der nunmehr klare Harn nach dem Kochen mit Alkali und Reduktion mit Schwefelammonium spektroskopisch nicht die Streifen des Haemochromogens. Übrigens gab der filtrierte Harn keine positive Benzidinreaktion auf Blut (6). Es ist also im Harn Blutfarbstoff überhaupt nicht in Lösung vorhanden.

Daß diese resistenten Blutkörperchen aber tatsächlich ihren Farbstoff besaßen, ergibt die weitere chemische Untersuchung. Das Blutkörperchensediment wird auf der Zentrifuge mehrmals mit destilliertem Wasser gereinigt, hierauf auf ein Filter gebracht und mit Alkohol und Aether nachgewaschen. Nach dieser Behandlung erscheinen die bisher bräunlichen Blutkörperchen schön rot gefärbt.

Trägt man nun eine kleine Quantität derselben in konc. Schwefelsäure ein, so beobachtet man bei der spektroskopischen Untersuchung einen Streifen links von D (mit dem rechten Rande an D angrenzend) und einen breiteren Streifen zwischen D und E, wodurch die Gegenwart von saurem Haematoporphyrin angezeigt wird.

Übergießt man den Niederschlag am Filter mit oxalsäurehaltigem Aether, so verschwindet die rote Farbe und schlägt in graubraune um. Das Filtrat ist rotbraun gefärbt und gibt einen deutlichen Streifen im Rot des Spektrums zwischen C und D nahe an C, ferner einen Streifen zwischen D und E nahe bei E und einen dritten Streifen zwischen E und F. Diese Streifen stimmen in ihrer spektralen Lage überein mit einer künstlich hergestellten Lösung von Haematin in oxalsaurem Aether (15). —

Gelöstes Haemoglobin oder Methaemoglobin haben wir im Kaninchenharn nicht beobachtet. Im Hundeharn fanden wir weder Blutkörperchen noch Blutfarbstoff.

Im kreisenden Blute der betreffenden Tiere war eine Erhöhung der Resistenz der roten Blutkörperchen nicht zu beobachten. Andererseits zeigte das Blut der Versuchstiere selbst bei schwerster Vergiftung keine Haemolyse.

Wir haben diese Resistenzerhöhung der im Harnsediment befindlichen Blutkörperchen wohl als durch einen passiven Vorgang bedingt aufzufassen; ob diese „Härtung" schon in den Nieren vor sich geht oder erst beim Verweilen in der Blase, bleibt dahingestellt.

Es bliebe noch die Frage zu beantworten, wieso denn überhaupt die reichlichen Mengen von Blutkörperchen in den Harn gelangen. Verletzungen der Harnwege, wie sie etwa durch Ausdrücken des Harns geschehen könnten, sind auszuschließen, weil auch bei Kaninchen, die spontan den Harn entleerten, der gleiche Befund

erhoben wurde. Der Austritt des Blutes in den Harn dürfte demnach in der Niere vor sich gehen. Zur Erklärung muß ganz allgemein eine toxische Schädigung der Gefäße angenommen werden. Die histologische Untersuchung einzelner Nierenschnitte bot keine Anhaltspunkte für eine speziellere Erkenntnis dieser Schädigung.

Die abnormen Farbstoffe des Benzidin-Harns. Der vom Sediment getrennte Kaninchenharn erscheint schon nach Gaben von 0,4 g täglich auffällig braun gefärbt, bei größeren Gaben nimmt diese Farbe erheblich zu und geht in ein intensives schokoladebraun über. Am sichersten beobachtet man das bei chronischer Verfütterung, weil der intensiv gefärbte Harn manchmal erst am 2. oder 3. Tage auftritt. Diese Färbung rührt nicht etwa von Methaemoglobin her, da, wie wir schon erwähnten, dieser Blutfarbstoff im Harn in nachweisbarer Menge nicht vorhanden ist.

Gallenfarbstoff ließ sich im Harn der Benzidinkaninchen niemals mit Sicherheit nachweisen. Die dunkle Färbung des Kaninchenharns nimmt beim Aufbewahren des Harns auch im Dunkeln (Eisschrank) und in verschlossenen Gefäßen ganz erheblich zu, an ein ähnliches Verhalten des Pikrinsäureharns (Walko) erinnernd. Der dunkle Farbstoff läßt sich durch neutrales Bleiacetat oder durch Erzeugung eines Niederschlages, wie etwa durch Zusatz von Natriumphosphat und Chlorcalcium, aus dem Harne ausfällen. Doch gelang es nicht, den Farbstoff aus dem Gemenge der niedergerissenen Substanzen in reiner unveränderter Form zu isolieren. Dieses erreichte ich erst auf folgende Weise:

1 l Harn (von Kaninchen, die täglich mit 0,4 g Benzidin gefüttert waren; der Harn wurde unter Aufbewahrung im Eisschrank gesammelt) wird mit 2 l destillierten Wassers verdünnt und hierauf unter anhaltendem Umrühren sukcessive mit 30 cc konz. Essigsäure versetzt. Es erfolgt allmählich eine dunkle Ausflockung.

Die Menge der hierzu nötigen Essigsäure wir vorerst in kleinen Harnmengen ausgetastet; die Ausflockung beginnt nicht gleich, sondern erst nach kurzdauerndem Stehen.

Nach 12 Stunden hat sich der Niederschlag gut abgesetzt, die darüber befindliche, leicht trübe Flüssigkeit wird vorsichtig zum großen Teile abgegossen, der den Niederschlag enthaltende Rest zentrifugiert. Die Flüssigkeit wird nun völlig abgegossen, der Rückstand mit ungefähr 200 cc durch Essigsäure stark angesäuertem Wasser auf der Zentrifuge gewaschen. Hierauf wird wiederum abgegossen, der Rest anhaftender Flüssigkeit durch Abpressen am Tonteller entfernt. Die dunkle Masse wird nun mit 96 proz. Alkohol verrührt und mehrmals mit Alkohol ausgekocht, bis dieser nichts mehr von dem Farbstoff aufnimmt, Der Alkohol wird heiß filtriert und das Filtrat durch 12 Stunden stehen

gelassen. Es scheidet sich eine geringe Menge eines dunklen Pulvers aus, von welchem wiederum abfiltriert wird.

Die dunkelbraune, alkoholische Lösung wird zum größten Teile abdestilliert, der Rest des Alkohols am Wasserbade verdampft. Der Rückstand wird mit verdünnter Sodalösung verrührt, die braune Lösung filtriert und das Filtrat mit Essigsäure stark angesäuert. Die Flüssigkeit trübt sich und scheidet nach einigem Stehen reichlich dunkle Flocken ab. Nach dem Absetzen wird der Niederschlag wiederum auf der Zentrifuge mit durch Essigsäure angesäuertem Wasser gut ausgewaschen, hierauf zwischen gehärtetem Filtrierpapier abgepreßt und schließlich über H_2SO_4 getrocknet. Aus 1 l Harn betrug die Ausbeute trotz der dunklen Farbe desselben kaum 5 ctg Substanz, weshalb wir später stets größere Mengen verwendet haben.

Die getrocknete Substanz bildet eine pechschwarze glänzende Masse. Dieselbe ist leicht löslich in Sodalösung, ziemlich löslich in Alkohol, etwas löslich in Wasser mit gelbbrauner Farbe, fast unlöslich in verdünnter Essigsäure.

Am Platinblech verbrennt sie mit Hinterlassung einer Spur Asche, die Eisen enthält. Direkt gibt die Substanz die Eisenreaktion nicht, sondern erst nach der Veraschung; es liegt somit organisch gebundenes Eisen vor. Wird die trockene Substanz vorsichtig mit Aetzkali geschmolzen, so geben die sich hiebei entwickelnden Dämpfe eine intensive Pyrrolreaktion.

Diese Momente im Zusammenhange mit der Tatsache betrachtet, daß das Benzidin eingreifende Veränderungen an den roten Blutkörperchen setzt, ließen die Vermutung aufkommen, daß wir es hier mit einem weit verändertem Derivate des Blutfarbstoffes zu tun haben. Wir können diese Vermutung aber nur mit Vorbehalt aussprechen, da uns die geringe Menge des erhaltenen Stoffes (0,2 g) eine eingehende Untersuchung nicht erlaubte. Die spektroskopische Untersuchung bot keine sicheren Anhaltspunkte. Man könnte auch an die Zugehörigkeit dieses Körpers zu den bei manchen Vergiftungen erwähnten aber noch nicht isolierten sogenannten „huminartigen“ Stoffen denken.

Auch aus dem gelbbraunen Hundeharn, wie er gewöhnlich am 2. oder 3. Tage nach der Eingabe von Benzidin entleert wird, konnte eine geringe Menge eines analogen Farbstoffes dargestellt werden. Daneben findet sich im Hundeharn nicht selten Gallenfarbstoff, der durch einen positiven Ausfall der Gmelinschen und Huppertschen Probe und spektroskopisch als Cholecyanin nachgewiesen wurde.

Daneben konnte sowohl aus Kaninchen- als auch aus Hundeharn von Benzidintieren ein roter Farbstoff künstlich erhalten werden und

zwar durch Kochen (15—30 Min.) mit Salzsäure. Während des Kochens färbt sich der Harn dunkelrotbraun und in die heiße Lösung für einige Zeit eingelegte Baumwollfäden nehmen eine schöne granatrote Färbung an. Bei langsamem Abkühlen der heiß filtrierten Lösung fällt der Farbstoff in Form von dunkelroten Körnchen aus und die Gefäßwände erscheinen zumeist blaustichig rot angelegt. Die gefärbten Baumwollfäden geben ihren Farbstoff an reines Wasser nicht ab; durch Seifenwasser werden sie gelbbraun, nachher durch salzsäurehaltiges Wasser gezogen, wieder rot.

Mit Schwefelsäure wird der Niederschlag intensiv blutrot, durch Alkalien wird der Farbstoff gelblich.

Der beim Abkühlen der Lösung ausfallende Niederschlag ist nicht rein, da beim Kochen mit Salzsäure sowohl in normalen, namentlich aber in kohlehydratreicheren Harnen Niederschläge von Huminstoffen entstehen. Von diesen wird allerdings die Hauptmasse durch Filtrieren der heißen Lösung entfernt.

Etwas reiner erhält man den roten Farbstoff folgendermaßen: Der dunkle Kaninchenharn wird mit neutr. Bleiacetat ausgefällt, im Filtrat das Blei mit Schwefelsäure entfernt, wobei ein deutlicher Überschuß von Schwefelsäure zugesetzt wird. Die Lösung wird nun unter Ersatz des verdampfenden Wassers erhitzt und sodann heiß filtriert. Beim langsamen Erkalten setzt sich der Farbstoff in Form eines roten, amorphen Niederschlages ab.

Bemerkt sei, daß in dem verwendeten Harne salpetrige Säure nicht vorhanden war.

Blutbefund und pathol. anatomischer Befund.

Das Benzidin ist ein Blutgift. Im Reagenzglase vermag es Oxyhaemoglobin in Methaemoglobin zu verwandeln und gleichzeitig Veränderungen an den roten Blutkörperchen zu setzen, im Tierkörper scheint die Methaemoglobinbildung nur eine untergeordnete Rolle zu spielen, hier treten die erwähnten Degenerationserscheinungen an den roten Blutkörperchen in den Vordergrund, sodaß man das Benzidin nach der üblichen Einteilung zu den „Blutkörperchengiften“ rechnen kann. (16) Methaemoglobin haben wir am lebenden Kaninchen niemals nachweisen können; nur einmal unter zahlreichen Hundeversuchen gab das Blut eines in agone befindlichen Tieres einen deutlichen Methaemoglobinstreifen.

Versuch 19. 24.II.06. 250 cc defibriniertes Rinderblut mit 0,5 g fein gepulvertem Benzindin versetzt und 1 Stunde bei 37° auf der Maschine geschüttelt. Zur Kontrolle 150 cc Blut ohne Zusatz ge-

schüttelt. — Nach 1 stündigem Schütteln ist im Benzidinblut neben den Oxyhaemoglobinstreifen auch der Methämoglobinstreifen angedeutet. Kontrolle nur Oxyhaemoglobin. Hierauf werden beide Proben im Wärmschrank (35 ^{0}) belassen.

25. XI. 06, Das Benzidinblut ist dunkelbraun, gibt beim Schütteln einen dunkelbraunen Schaum. Spektroskopisch: Methaemoglobin neben Oxyhaemoglobin. Mikroskopisch findet man Blutkörperchen mit feinen Körnchen, die Mehrzahl der Blutkörperchen zeigt diese Körnchen nicht. Die Blutkörperchen zeigen keine Stechapfelformen.

In der Kontrollprobe nur Oxyhaemoglobin. Mikroskpisch reichliche Stechapfelformen.

26. XI. 06. Benzidinblut braun, Methaemoglobin neben Oxyhaemoglobin. Mikroskopisch: Die r. Blutkörperchen großenteils aufgelöst, die vorhandenen rund, blaß; keine Stechapfelformen.

Kontrollprobe dunkelrot, nur Oxyhaemoglobin, Blutkörperchen erhalten, reichlich Stechapfelformen.

27. XI. 06. Der Methaemoglobinstreifen ist beim Benzidinblut nicht mehr nachweisbar. Beide Proben zeigen nur die Oxyhaemoglobinstreifen.

28. XI. 06. Beide Proben zeigen nur die Oxyhaemoglobinstreifen. Das Benzidinblut wird wieder mit 0,5 g Benzidin versetzt und gleichzeitig mit der Kontrollprobe durch 2 Stunden bei 37 ^{0} auf der Maschine geschüttelt. Das Benzidinblut gibt wiederum einen deutlichen Methaemoglobinstreifen. Da aber auch in der Kontrollprobe der Methaemoglobinstreifen angedeutet ist, wird der Versuch abgebrochen.

Bemerkenswert scheint bei diesem Versuche, daß beim Stehen der Probe das Methaemoglobin spontan aus dem Blute verschwand.

Die Zahl der roten Blutkörperchen nimmt beim Kaninchen im Laufe der Vergiftung ab, wohl zum Teile infolge des Blutverlustes durch den Harn.

Versuch 20. Kaninchen 2400 g.

28. XI.	12 Uhr mittag	6,220 000 Erythrocyten (mm 3)	1 g Benzidin per os.
29. XI.	" " "	5,370 000	"
30. XI.	" " "	4,550 009	"
1. XII.	" " "	4,320 000	"
2. XII.	" " "	4,970 000	" (Starke Körnchenbildung).

5. XII. In der Nacht auf den 3. XII. Exitus letalis.

Sektion: Ikterische Färbung der Skleren und Konjunktiven. Gelbfärbung der Aorta und großen Gefäße, ebenso des Fettes im Abdomen.

Die Zahl der roten Blutkörperchen kann noch niedrigere Werte erreichen; so zeigte ein Kaninchen (Versuch Nr. 21), das durch 6 Tage täglich je 0,5 g salzsaures Benzidin per os erhielt, am 7. Tage in agone 3,450,000 Rote in mm ^{3}. Fast alle Blutkörperchen dieses Tieres zeigten starke Körnchenbildung. Bei der Sektion war kein Ikterus nachweisbar.

Haemolyse wurde, wie schon erwähnt, bei Hund, Kaninchen und Katze selbst bei schwerster Vergiftung nicht beobachtet.

Pathologisch anat. Befund. Bei der Sektion von Kaninchen, die einer Benzidinvergiftung — namentlich der chronischen — erlegen sind, fällt insbesondere die ikterische Färbung auf, die schon häufig in vivo durch die gelbliche Färbung der Skleren und Conjunctiven zu erkennen ist. Die Gelbfärbung ist außerdem gewöhnlich an der Jntima der großen Gefäße, am abdominalen Fett, manchmal auch an der Außenseite des Darms und an der Leber gut zu sehen. Doch ist der Befund durchaus nicht konstant. Beim Hunde haben wir einen deutlich ausgeprägten Ikterus nicht beobachtet; dagegen ist die Gallenblase gewöhnlich strotzend gefüllt und erscheint stark vergrößert, auch ist der Darm über weite Strecken hin mit einer bräunlichen, galligen Flüssigkeit erfüllt. In einem solchen Falle (Vers. Nr. 22. Weißer Hund, 6200 g, 0,5 g Benzidin in 50 cc 3proz. Milchsäure per os) war die Gallenblase 7 cm lang, 3,7 cm im größten Durchmesser und enthielt 32 cc ziemlich dünnflüssiges Sekret.

Sonst findet man beim Hunde als ziemlich konstanten Befund starke Rötung bis haemorrhagische Infiltration im Bereiche der Schleimhaut des duodenums, aber auch an übrigen Abschnitten des Darmes. Die Nieren boten keinen charakteristischen Befund; gelegentlich findet man bei der histologischen Untersuchung etwas parenchymatöse und fettige Degeneration.

Mehr Interesse konnte die Untersuchung des Knochenmarks, der Milz und der Leber beim Kaninchen beanspruchen. Die histologische Untersuchung dieser Organe, die Herr Doz. Dr. Helly, Assistent am pathol. Institut, auszuführen die Freundlichkeit hatte, ergab folgenden Befund:

Im Knochenmark der langen Röhrenknochen anämische Degeneration in Form von Herden unregelmäßig gestalteter Erythroblasten, deren Kerne in hohem Grade karyorektischen Zerfallserscheinungen unterliegen und infolge dessen bizarre Formen aufweisen. Die übrigen Knochenmarks-Parenchymzellen zeigen starke Vermehrung der Eosinophilen, Mastzellen außerordentlich spärlich, Megakaryocyten bei mäßiger Reichlichkeit von starken Degenerationsprozessen an den Kernen (Riesenkernbildung) befallen, die lymphocytären Elemente zeigen eine Vermehrung, stellenweise gruppenförmige Anordnung der großen Knochenmarkslymphocyten. —

Milz. Makr. vergrößert, dunkel. Mikr. starke Blutfülle nebst Verdrängung des größten Teiles der lymphatischen Elemente durch

rote Blutkörperchen in der Pulpa, sehr reichlich Pigmentzellen, die mit blaßgelblichem Pigment gefüllt sind (spodogener Milztumor).

Leber. Neben geringen Zeichen parenchymatöser Degeneration reichlich Verlegung der kleinsten Gallenwege durch Gallenthromben. Die Leberzellen mit gelbem, körnigem Pigment gefüllt.

Während die akute Wirkung des Benzidins vorwiegend durch Störungen des Zuckerstoffwechsels und durch die nervösen Symptome charakterisiert ist, beweist der pathologisch-anatomische Befund, daß damit die Wirkungssphäre unseres Stoffes durchaus nicht erschöpft ist, daß vielmehr noch eine Reihe weiterer subakuter Störungen auftritt, welche die Zugehörigkeit des Benzidins zu der Gruppe der Blutgifte begründet; in dieser Richtung erinnert die Benzidinvergiftung in vielen Details an die bekannten von Stadelmann (17) ermittelten Tatsachen.

Das Schicksal des Benzidins im Tierkörper.

Über das Schicksal des Benzidins im Tierkörper liegen bisher nur Versuche von Klingenberg (8) vor in einer unter Leitung von Nasse ausgeführten Arbeit. Klingenberg experimentierte an 2 Hunden, von denen der eine 0,5 g, der andere 1 g Benzidin mit der Nahrung erhielt. Klingenberg konstatierte nun, daß nach Eingabe von Benzidin keine Vermehrung der Aetherschwefelsäuren im Harn auftrete und beobachtete ferner, daß der Harn eine seiner Meinung nach für Benzidin charakteristische Farbenreaktion mit Bromwasser gab. Dieser Autor kam nun aus diesem Grunde zu dem Schlusse, daß das Benzidin unverändert in den Harn übergehe. Klingenberg zieht zur Deutung seiner Versuche die von Nölting (9) für Reaktionen in vitro aufgestellten Regeln heran, wonach bei Substitutionen im Benzolkern, bei dem schon eine Stelle besetzt ist, hauptsächlich para-Derivate entstehen. Nach Klingenberg's Meinung könne diese Regel allgemein auch für die im Tierkörper stattfindenden Hydroxylierungen im Benzolkern Anwendung finden, derart, daß die Hydroxylgruppe zu der besetzten Stelle in para-Stellung eintrete. „Ist aber diese Stelle bereits besetzt, so zeigt sich im tierischen Organismus zunächst eine Hydroxylierung als nicht möglich und muß dieselbe auch extra corpus als unwahrscheinlich bezeichnet werden.“ Als eine Stütze für diese Erweiterung der Nöltingschen Regeln führt er an, daß beim Benzidin und Dibromdiphenyl nach seinen Versuchen eine Hydroxylierung nicht stattfinde. Diese Anschauung Klingenberg's wird bisher immer wieder in der Literatur angeführt.

Dem gegenüber will ich gleich an dieser Stelle bemerken: Unverändertes Benzidin geht nicht in den Harn über, abgesehen von minimalen Mengen, die sich qualitativ kaum mit Sicherheit nachweisen lassen. Somit kommt auch der von Klingenberg angebahnten Erweiterung der Nöltingschen Regeln für den Tierkörper eine allgemeine Gültigkeit nicht zu.

Daß die Aetherschwefelsäuren nach Eingabe von Benzidin nicht vermehrt sind, kann ich auch für den Kaninchenharn bestätigen.

Versuch 23. Kaninchen 1820 g. Normaltag: Harnmenge und Spülflüssigkeit: 100 cc = 0,3744 g $BaSO_4$ entsprechend 0,1575 g Gesamtschwefelsäure. Davon 0,1748 g $BaSO_4$ entsprechend 0,0735 g Sulfatschwefelsäure. Differenz: 0,1996 g $BaSO_4$ entspr. **0,0840 g Ätherschwefelsäure**. Versuchstag (nach Zufuhr von 1 g Benzidin in 25 cc Wasser): Harnmenge und Spülflüssigkeit: 250 cc = 0,2215 g $BaSO_4$ entspr. 0,0932 g Gesamtschwefelsäure. Davon 0,0958 g $BaSO_4$ entspr. 0,0403 g Sulfatschwefelsäure. Differenz: 0,1257 g $BaSO_4$ entspr. **0,0529 g Ätherschwefelsäure**.

Daß die mangelnde Vermehrung der Aetherschwefelsäuren die Möglichkeit einer Oxydation des Benzidins nicht widerlegt, lehren die folgenden Versuche.

Wir gingen zunächst daran — unter der Voraussetzung, daß das Benzidin unverändert in den Harn übergehe — festzustellen, wieviel Benzidin sich überhaupt im Harne der damit gefütterten Tiere nachweisen lasse. Zur quantitativen Bestimmung eignet sich besonders gut das äußerst schwer lösliche Benzidinsulfat. 40 cc Harn (von Kaninchen, die täglich mit 0,4 g Benzidin gefüttert wurden) werden mit verd. Schwefelsäure versetzt, bis Kongopapier deutlich blau bleibt. Nach 2stündigem Stehen wird der entstandene Niederschlag abgesaugt. Der Niederschlag wird mit wenig Wasser, Alkohol und Aether gewaschen. Hierauf wird durch 2 Stunden bei 50^0 und durch 12 Stunden bei 75^0 zur Gewichtskonstanz getrocknet.

40 cc Harn liefern 0,0152 g Niederschlag. Dieser geringe Wert kann nicht einmal zur Gänze auf Benzidinsulfat bezogen werden, da die gewogene Substanz nicht rein weiß, sondern verunreinigt war.

Nach der Wägung wurde der Niederschlag mit wenig starkem Ammoniak gekocht, wobei aus etwa vorhandenem Benzidinsulfat freies Benzidin erhalten werden müßte. Es ließ sich aber auf diese Weise kein Benzidin mit Sicherheit nachweisen.

Von der Beobachtung ausgehend, daß der Harn auf Zusatz von Brom (bei Gegenwart von Bromwasserstoffsäure) eine auffallend reichliche grünliche Fällung gab, schien es uns von Interesse, die Menge der durch Brom fällbaren Stoffe kennen zu lernen. Da sich hiebei bei Vorhandensein von freiem Benzidin das charakteristische Tetrabrombenzidin bilden müßte, war gleichzeitig die Möglichkeit geboten, etwa vorhandenes Benzidin qualitativ nachzuweisen.

20 cc desselben Kaninchenharns werden mit 40 cc 25proz. Bromwasserstoffsäure und hierauf mit Brom in geringem Überschusse versetzt. Nach einstündigem Stehen hat sich ein reichlicher dunkelgrün gefärbter Niederschlag abgesetzt. Hierauf wird abgesaugt, mit 25 Proz. Bromwasserstoffsäure gewaschen, durch 3 Stunden bei 50° und 12 Stunden bei 75° zur Gewichtskonstanz getrocknet. Gewicht der erhaltenen Bromverbindungen: 0,1447 g. Das entspräche für 100 cc Harn 0,7235 g.

Diese Zahl ist eine auffallend hohe im Verhältnis zu der für Benzidinsulfat gewonnenen. Wenngleich nun auch normaler Kaninchenharn bei der Behandlung mit Brom eine nicht unwesentliche Fällung gibt, so war die Menge der erhaltenen Bromderivate doch auffallend hoch und im Zusammenhange mit der abnormen Grünfärbung des Niederschlages war anzunehmen, daß ein charakteristisches Produkt in den Niederschlag ging.

Zur Isolierung von etwa vorhandenem Tetrabrombenzidin wurde der vorhandene Niederschlag im luftverdünnten Raume sublimiert. Das in sehr geringer Menge erhaltene Sublimat war von grauweißer Farbe, undeutlich kristallinisch und zeigte bis über 350° kein Schmelzen. Tetrabrombenzidin ist schön kristallisiert und schmilzt bei 284°.

So war also auch auf diese Weise unverändertes Benzidin im Harn nicht nachweisbar.

In einem weiteren Versuche zur Bestimmung etwa vorhandenen freien Benzidins wurde aus einer größeren Menge Kaninchenharn ein Alkohol-Aetherextrakt bereitet und darin der Nachweis zu führen gesucht.

100 cc Harn werden am Wasserbade zur Syrupkonsistenz eingeengt und hierauf in 150 cc 96 proz. Alkohol unter Umrühren allmählich eingegossen. Nach mehrstündigem Stehen wird filtriert, der Alkohol auf ein kleines Volumen eingeengt und nun in 100 cc Äther unter Umrühren eingetropft. Nach dem Filtrieren wird der Äther bis auf ca 8 cc verjagt, der Rest wieder in Alkohol aufgenommen; von einem kleinen ungelösten Rückstand wird abfiltriert. Die Lösung wird nun auf ein kleines Volumen (ca 6 cc) eingeengt und sodann mit verdünnter

Schwefelsäure in geringem Überschusse versetzt. Es fällt ein geringer Niederschlag. Nach dem Trocknen wird gewogen. 100 cc Harn liefern 0,0454 g Substanz. Durch Behandlung mit Ammoniak konnte aus dem Niederschlag freies Benzidin nicht gewonnen werden. Die schließlich erhaltene Lösung gab wohl mit Bromwasser eine Grünfärbung, jedoch nur eine kaum wahrnehmbare Trübung.

Es wäre also in der relativ großen Menge Kaninchenharn im besten Falle kaum 3 ctg freies Benzidin enthalten gewesen, eine Zahl, die in Anbetracht dessen, daß der gewogene Niederschlag nicht rein weiß, sondern braun und daher verunreinigt war, noch verringert werden müßte.

Eine analoge Bestimmung wurde auch im Hundeharn ausgeführt (Vers. Nr. 24. 8. 7. 1907. Fox 5500 g, 1 g Benzidin per os). Im Harn der nächsen 24 Stunden ließ sich nicht eine Spur Benzidin nachweisen.

In einem weiteren Versuche wurde das sich spontan absetzende Sediment des Kaninchenharns gesondert untersucht: 2 l Kaninchenharn (von Tieren, die täglich mit 0,4 g Benzidin gefüttert wurden), der nach dem Aufbewahren im Eisschrank ein reichliches Sediment aufwies, wurde durch ein Faltenfilter filtriert. Das Filtrieren geht ungemein langsam von statten. Nachdem die Flüssigkeit vollkommen abgetropft war, wird das Sediment in einer Reibschale mit etwa 1 l 96proz. Alkohol tüchtig verrieben. Der Rest des Niederschlages wurde mit reichlich Alkohol auf dem Wasserbade mehrmals ausgekocht, bis die letzte Portion Alkohol völlig farblos war. Sämtliche alkoholischen Auszüge wurden vereinigt und über Nacht stehen gelassen. Hierauf wird filtriert und auch die alkoholunlöslichen Niederschläge vereinigt aufbewahrt.

Der alkoholische Auszug müßte nun das etwa vorhandene freie Benzidin enthalten, während der alkoholunlösliche Niederschlag auf schwerlösliche Benzidinverbindungen wie Benzidinsulfat zu prüfen war

Die Prüfung auf Benzidinsulfat geschah in folgender Weise: Der Niederschlag wird mit NH_3 gekocht, hierauf mehrere Stunden in der Kälte belassen. Sodann wird abgesaugt und der Niederschlag mit möglichst wenig Wasser ammoniakfrei gewaschen; sodann wird derselbe mit heißem Wasser gut ausgekocht und heiß filtriert. Nach dem Abkühlen wird mit verd. Schwefelsäure versetzt. Es erfolgt die Bildung eines minimalen, kaum wägbaren braunen Niederschlags.

Daraus geht hervor, daß Benzidinsulfat im Sedimente nicht nachzuweisen war, obwohl die angewendete Reaktion so empfindlich ist, daß selbst Milligramme Benzidin eine deutliche Fällung geben.

Das gelbbraune alkoholische Filtrat wurde nun zu einem großen Teile abdestilliert, der Rest des Alkohols am Wasserbade verjagt. Es resultiert eine dunkle, beim Erkalten erstarrende Masse. Diese wird nun mit Wasser gut verrieben, mehrmals mit Wasser gründlich ausgekocht und heiß filtriert: Beim Abkühlen erstarrt die Lösung zu einem dichten Kristallbrei.

Nach dreimaligem Umkristallisieren aus heißem Wasser und Trocknen im Vacuumexsiccator über H_2SO_4 resultiert ein leicht gelbliches Pulver. Dieser so isolierte Stoff war aber kein Benzidin, sondern ein Derivat desselben.

Vom Benzidin unterscheidet er sich dadurch, daß die Lösung mit H_2SO_4 kein schwerlösliches Sulfalt liefert, ferner durch Schmelzpunkt und elementare Zusammensetzung. Bei Verarbeitung größerer Harnmengen haben wir uns zur Gewinnung des Harnsedimentes statt des Filtrierens der Zentrifuge bedient. Man läßt das Sediment im Eisschrank im verschlossenen Gefäße sich spontan absetzen, was gewöhnlich mehrere Tage bis zu einer Woche dauert. Hierauf wird die darüber befindliche Flüssigkeit vorsichtig dekantiert und das Sediment aus dem Reste durch Zentrifugieren gewonnen. Nach weiterer Aufbewahrung der dekantierten Flüssigkeit im Eisschrank bildet sich gewöhnlich noch ein zweites Sediment; da dieses die zu isolierende Substanz ebenfalls in nicht unerheblicher Menge enthält, wird es in derselben Weise verarbeitet.

Das Präparat kann nach mehrmaligem Umkristallisieren aus heißem Wasser von anhaftenden Verunreinigungen befreit werden, indem man das völlig trockene Pulver in 96 proz. Alkohol unter Erwärmen löst und mit wenig reinster Tierkohle (Carbo animalis puriss. pro analysi Merck) kurze Zeit kocht. Hierauf wird in eine Porzellanschale heiß filtriert, mit siedendem Alkohol mehrmals nachgewaschen und der Alkohol am Wasserbade völlig abgedampft. Der gelbliche Rückstand wird mit Wasser verrieben und in siedendem Wasser umkristallisiert. Beim Erkalten fällt die Substanz rein weiß aus; allerdings tritt bein Trocknen im Vacum über H_2SO_4 leicht gelbliche Verfärbung ein. — Die Reinigung ist ziemlich verlustreich.

Es schien uns von vornherein sehr wahrscheinlich, daß dieser neugewonnene Stoff, analog dem Verhalten zahlreicher anderer Substanzen, durch den Eintritt von OH-Gruppen in die Benzolkerne im Tierkörper entstanden sei.

Daß in unserem Falle je eine OH-Gruppe in die Aminogruppen des Benzidins eingetreten wäre, war deshalb auszuschließen, weil das zu einem von unserer isolierten Substanz völlig verschiedenen Stoffe, dem 4,4'— Bishydroxylaminobiphenyl (18), geführt hätte, einem

Öl, das erst nach mehreren Monaten kristallisiert, mit Wasserdämpfen flüchtig ist, ammoniakalische Silberlösung unter Spiegelbildung reduziert und durch Sn und HCl in Benzidin umgewandelt wird. Diese erwähnten Eigenschaften kommen dem aus Harn isolierten, leicht kristallisierenden Stoffe nicht zu.

Es war demnach anzunehmen, daß die OH-Gruppen in die beiden Kerne eintreten und wir somit zu einem Stoffe von der Formel $C_{12}H_6(OH)_2(NH_2)_2$ gelangen, einem **4,4' — Diamino-dioxy-diphenyl.**

Zur Identifizierung des aus dem Kaninchenharn isolierten Stoffes mit dem angeführten Diaminodioxydiphenyl wurde die Elementaranalyse ausgeführt. Dieselbe ergab mit dem im Vacuum über H_2SO_4 getrockneten Produkte folgende Werte:

0.1573 g Sbst.: 0.3830 g CO_2, 0.0802 H_2O. —
0.2287 g Sbst.: 24.6 ccm f. N (15°, 752 mm)
$C_{12}H_6(OH)_2(NH)_2$ Ber. C 66.66 H 6.02 N 12.96.
Gef. „ 66.40 „ 6.23 „ 12.46.

Die gefundene prozentuelle Zusammensetzung ergibt somit für Diaminodioxydiphenyl gut übereinstimmende Werte.

Ein Vergleich mit dem synthetisch gewonnenen Diaminodiphenyl war nicht möglich, da dasselbe meines Wissens bisher in der Literatur nicht erwähnt ist.

Die charakteristischen Eigenschaften der isolierten Substanz sind folgende:

Mikroskopisch kleine, weiche Schüppchen. Ziemlich löslich in Alkohol, schwer in kaltem, leicht löslich in siedendem Wasser, fast unlöslich in Sodalösung und in verdünnter Salzsäure, glatt löslich in starkem Ammoniak. Der Schmelzpunkt der Präparate verschiedener Darstellungen schwankte zwischen 130—138°. Geringe, fest anhaftende Verunreinigungen vermögen den Schmelzpunkt des Präparates sehr zu beeinflussen. So zeigte das Präparat einer Darstellung trotz mehrfachem Umkristallisieren aus siedendem Wasser eigentümlicherweise einen ungewöhnlich hohen Schmelzpunkt (F=280°); erst nach der Reinigung mit Tierkohle sank der Schmelzpunkt ab (F = 135—138°). Die konzentrierte wässerige oder eine alkoholische Lösung gibt mit Eisenchlorid eine Grünfärbung; nach längerem Stehen scheiden sich aus der wässerigen Lösung dunkle Flocken ab; mit Lugolscher Lösung entsteht Braunfärbung, nach kurzer Zeit eine dunkle Fällung. Die alkoholische Lösung wird, mit Kaliumnitrit und einigen Tropfen Essigsäure versetzt, allmählich gelbrot, Einige Centigramme der Substanz in wenig konz. H_2SO_4 gelöst.

geben mit dem Liebermannschen Reagens eine Rotfärbung. Mit Salpetersäure erwärmt, entsteht eine gelbe, in Alkali leicht lösliche Verbindung. — Bei Gegenwart eines reichlichen Überschusses von Salzsäure gibt die konz. wässerige Lösung mit Bromwasser eine smaragdgrüne Färbung, nach kurzer Zeit fallen ebenso gefärbte Flocken aus.

Die Bestimmung der Stellung der Hydroxylgruppen in den Benzolkernen war wegen der geringen Menge der zur Verfügung stehenden Substanz nicht ausführbar.

Die Oxydationsprodukte des Benzidins sind in neuerer Zeit von Willstätter und Kalb (19) eingehend studiert worden. Analog wie bei der Oxydation des γ-Diphenols ein Diphenochinon von der Formel O : : O entsteht, bildet sich durch Einwirkung oxydierender Agentien aus Benzidin das Diphenochinondiimin = NH : : NH. Dieses Diimin ist sehr unbeständig und polymerisiert sich leicht zu einer beständigen, symetrischen Aminoazoverbindung, dem Diaminoazobiphenyl*)



Die grün-blaue Färbung bei der von mir und Rudolf Adler angegebenen Benzidinreaktion zum Nachweis von Blut beruht voraussichtlich ebenfalls auf der Bildung des Diphenochinondiimins. Das Verschwinden der Färbung nach längerem Stehen spricht für die geringe Beständigkeit dieser Verbindung.

Im Tierkörper konnten nach Eingabe von Benzidin weder das erwähnte chinoide Produkt, noch die Azoverbindung nachgewiesen werden; vielmehr führt der Oxydationsprozeß im Organismus zu dem von mir beschriebenen hydroxylierten Benzidinderivate.

Anhang.

Es schien uns wünschenswert, einige dem Benzidin in chemischer Hinsicht nahestehenden Stoffe in ihrer Wirkung auf den Tierkörper kennen zu lernen. Hierbei kam es nicht darauf an, das Schicksal dieser Stoffe im Organismus zu verfolgen, sondern nur festzustellen, ob etwa einzelnen dieser Derivate irgend eine andersartige, auffällige Wirkung zukomme.

*) Eine geringe Menge dieses von Herrn Professor Willstätter selbst dargestellten und uns freundlichst zur Verfügung gestellten Präparates erwies sich in einem Tierversuche als vollkommen unwirksam.

Die Stoffe, welche wir in den Bereich unserer Untersuchung gezogen haben, sind folgende: Benzidin-disolfosaures Natrium (Höchst), Diglykosebenzidid, Diphenylin, o-Tolidin, salzsaures Dianisidin (Höchst), Diaminodiphenylmethan.

Es sei mir gestattet, an dieser Stelle den Farbwerken vorm. Meister Lucius & Brüning in Höchst a. M. für die liebenswürdige Überlassung einer Anzahl ihrer Präparate meinen Dank auszusprechen.

Benzidinsulfosaures Natrium (Höchst). $(C_6H_3NH_2)_2.(SO_3Na)_2$ Diese Verbindung, die in Wasser leicht löslich ist, wurde Kaninchen in die Ohrvene infundiert (1 g in 25 cc Wasser). In 2 Versuchen erwies sich der Stoff als völlig wirkungslos. Während sich unverändertes Benzidin im Harne niemals nachweisen läßt, gibt der Harn nach Eingabe von benzidindisulfosaurem Natrium mit einem kleinen Überschusse verdünnter Schwefelsäure eine weiße, massige Fällung, die offenbar aus der schwefelsauren Verbindung der Benzidindisulfosäure besteht.

Diglykose-Benzidid $(C_6H_4N)_2.(C_6H_{12}O_5)_2$. Diese Verbindung, die bisher noch nicht bekannt war, habe ich dargestellt, um die früher beschriebene Benzidinglykosurie näher zu studieren. Es hatte sich gezeigt, daß gleichzeitige Zufuhr von Benzidin und Glykose eine Steigerung der Glykosurie nicht bewirke; ich versuchte nun festzustellen, wie sich die Glykose in chemischer Bindung mit dem Benzidin verhalte.

Das Diglykose-Benzidin habe ich folgendermaßen erhalten: Eine Lösung von 1 Mol. Benzidin und 2 Mol. Dextrose in alkoholischer Lösung werden 3 Stunden auf dem Wasserbade erhitzt: sodann wird die Lösung durch Verjagen von etwa 2 Dritteln des Alkohols auf ein kleines Volumen gebracht. Beim langsamen Abkühlen kristallisiert die Verbindung in Form von mikroskopisch kleinen Nadeln, die häufig zu Kugeln vereinigt sind, aus. Die Verbindung ist ziemlich schwer löslich in Wasser und kaltem abs. Alkohol, ziemlich leicht löslich in verdünntem Alkohol. — Die alkoholische Lösung ist stark linksdrehend. Nähere Angaben über die Verbindungen des Benzidins mit Kohlehydraten sollen an anderer Stelle erfolgen.

Die Substanz wurde in verdünnter alkoholischer Lösung zu intravenösen Infusionen verwendet; auch körperwarme, wässerige Lösungen wurden intravenös infundiert, doch waren hiezu große Flüssigkeitsmengen erforderlich. Auch kann es vorkommen, daß ein Teil der Substanz bei protrahierter Infusion in Form feiner Flocken ausfällt; doch habe ich hiebei eine Embolie nicht beobachtet.

Ein Versuch mit Diglykose-Benzidid sei hier angeführt:

Versuch 25. Junger Hund. 3900 g.

4. XI. 11 Uhr vorm. 1,3 g Diglykose-Benzidid in 200 g Wasser von 37° intravenös (vena jugularis) infundiert.

Im Anschlusse an die Infusion keine Erscheinungen.

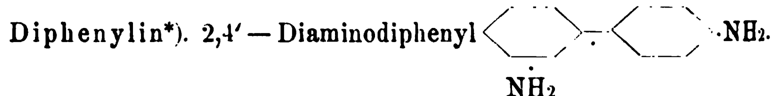
5. XI. 06. Bisher keine auffälligen Erscheinungen. Harn (bis 11 Uhr vorm.) 132 cc, sauer reagierend, mäßig braun gefärbt, deutlich reduzierend. Polarisation: 0,89 Proz. Dextrose. Mit 132 cc Harn wurden 1,1 g Dextrose ausgeschieden.

6. XI. Keine Erscheinungen. Harn bis 11 Uhr vorm. 233 cc, ohne abnorme Bestandteile. — Versuch abgebrochen.

Eine Steigerung der Glykosurie durch das Diglykose-Benzidid ist demnach nicht zu beobachten.

Auch die Wirkung dieses Stoffes auf das Kaninchen zeigte keine Abweichung von der eigentlichen Benzidinwirkung.

Diphenylin*). 2,4′ — Diaminodiphenyl



Mit dieser Substanz, von der mir nur geringe Mengen zur Verfügung standen, konnte nur ein orientierender Versuch am Hunde durchgeführt werden.

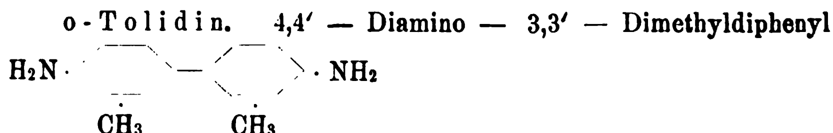
Versuch 26. Kleiner Hund. 4820 g.

21. I. 07. 5 Uhr 25. 0,4 g Diphenylin in körperwarmer physiol. Kochsalzlösung in die ven. jug. sin. infundiert (bis 5 Uhr 38). 5 Uhr 40. Das Tier liegt in Seitenlage, völlig ruhig, wie schlafend. Zeitweise heftige Laufbewegungen. Cornealreflexe vorhanden. 5 Uhr 50. Erbrechen. Unruhe, lautes Wimmern; das Tier erscheint wie berauscht. 7 Uhr 30. Bisher erfolgte noch zweimal Erbrechen. Das Tier verhält sich nunmehr ruhiger.

22. I. 07. Der Hund frißt fast gar nichts, zeigt aber sonst keine Erscheinungen.

23. I. 07. Zustand wie am 22. I. Seit der Infusion wurden bisher 180 cc Harn entleert. Der Harn ist von normaler gelbbrauner Farbe, reagiert schwach alkalisch, zeigt mäßige Reduktion; Polarisation: inaktiv. Kein Eiweiß. — Versuch abgebrochen.

o-Tolidin. 4,4′ — Diamino — 3,3′ — Dimethyldiphenyl



Mit dieser Substanz wurden 3 Versuche an Kaninchen durchgeführt.

*) Bezogen von Schuchardt.

Versuch 27. Kaninchen 2200 g, erhält vom 19. XI. 06 bis inkl. 21. XI. tgl. 1 g 0-Tolidin in 20 cc Wasser suspendiert per os.

21. XI. Das Tier hat bisher spontan keinen Harn entleert. Durch Ausdrücken wurden 4 cc Harn von hellgelber Farbe erhalten. Der Harn enthält Eiweiß in geringer Menge.

22. XI. Auch durch Ausdrücken kein Harn zu erhalten. Das Tier ist ist äußerst hinfällig. Gegen 12 Uhr mittags exitus letalis. — Sektion: In der Bauchhöhle 10 cc rötliches Serum, in der Brusthöhle eine geringe Menge Serums. Das Blut gerinnt in vitro schnell, spektroskopisch nur die Oxyhaemoglobinstreifen. Die Nieren an der Außenfläche weißgrau gestichelt, auch im Durchschnitt von weißgrauer Farbe. Die Nierenkapsel leicht abziehbar. Die zwei weiteren Kaninchenversuche (Versuch 28 und 29) ergaben ein ähnliches Resultat.

Während beim Kaninchen nach Eingabe von Benzidin Störungen der Harnsekretion nicht zur Beobachtung gelangen, treten diese Störungen nach Zufuhr von o-Tolidin deutlich in den Vordergrund.

Dianisidin (Höchst), Dimethoxylbenzidin, $NH_2 . (CH_3O)C_6H_3 . C_6H_3(OCH_3)NH_2$.

Diese Substanz vermag in Form ihrer salzsauren Verbindung eine äußerst markante Wirkung auf die menschliche Nasenschleimhaut auszuüben. Selbst sehr geringe Mengen des pulverförmigen Stoffes rufen, in der Luft verstäubt, krampfhaftes Nießen hervor, das sich bis zur Unerträglichkeit steigern kann. Bei zwei gesunden Versuchspersonen (Dr. W. W. und Selbstversuch), die sich mit Absicht der Wirkung des salzsauren Dianisidins besonders intensiv aussetzten, habe ich im Anschlusse an die Nießkrämpfe Katarrhe der Nase und der oberen Respirationswege auftreten sehen, die erst nach etwa einer Woche zur Norm abklangen.

In Anbetracht der ausgedehnten technischen Verwendung des salzsauren Dianisidins in der Farbstoffchemie ist diese Wirkung des Stoffes wohl zu berücksichtigen.

Beim pulverförmigen salzsauren Benzidin fand ich die Nießwirkung eben angedeutet, beim salzsauren Tolidin (Dimethylbenzidin) [Höchst] schon deutlich gesteigert, beim salzsauren Dianisidin (Dimethoxylbenzidin) erreicht diese Wirkung ein Maximum. Beim Hunde und beim Kaninchen äußerte sich diese Wirkung niemals in besonders auffälliger Weise, etwas deutlicher reagierten, Meerschweinchen und weiße Ratten, wenn man ihnen den Stoff gegen die Nase blies.

Größere Gaben von salzsaurem Dianisidin wirken beim Hunde innerlich verabreicht, tödlich.

Versuch 30. Gelber Hund. 10900 g.

8. VII. 07. 1/2 5 Uhr nach. 3 g salzs. Dianisidin in 50 cc Wasser per os.

9. VII. Das Tier verhielt sich bisher auffallend apathisch, keine besonderen Erscheinungen. Harn (bis 10 Uhr vorm.) 250 cc, amphoter reagierend, Reduktion ziemlich deutlich, Polarisation inaktiv. 1/2 8 Uhr abends. Das Tier zeigt eine krampfhafte, ruckartige Respiration. 8 Uhr. Unter heftigen tonischen und klonischen Krämpfen tritt exitus letalis ein. Sektion: Das Blut zeigt nur die Oxyhaemoglobinstreifen. An den inneren Organen keine auffälligen Veränderungen.

Ferner sei ein Versuch am Kaninchen hier angeführt.

Versuch 31. Kaninchen 1400 g erhält vom 5. XII. 06 bis inkl. 10. XII. täglich 0,3 g salzs. Dianisidin in 20 cc Wasser per os.

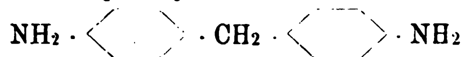
6. XII. Der Harn ist deutlich braun gefärbt, von saurer Reaktion, schwach reduzierend. Eiweiß reichlich vorhanden. Im Sedimente finden sich zahlreiche rote Blutkörperchen von normaler Beschaffenheit, ferner eigentümliche stabförmige Kristalle.

13. XII. Gewicht 1280. Harn wie am 6. XII.

16. XII. Harn hell gefärbt von normaler Beschaffenheit. Das Tier zeigt keine auffälligen Erscheinungen. — Versuch abgebrochen.

Beim Frosch bewirkt das Dianisidin zentrale Lähmung und Ausfall der Kehlatmung bei intakter Herzaktion.

4,4'—Diaminodiphenylmethan.



Das käufliche Präparat wurde durch Auflösen in warmem Alkohol von einem hiebei unlöslichen braunen Öl befreit; die beim Abkühlen auskristallisierende Substanz wurde sodann nochmals aus Toluol umkristallisiert. F = 90° (corr.)

Versuch 32. Hund 5000 g.

3. IV. 07. 0,2 g Dianinodiphenylmethan werden, in 8,5 cc nHCl gelöst, subkutan injiziert.

4. IV. Keine auffälligen Erscheinungen. Harn (24 Stunden): 80 cc, von schwach alkalischer Reaktion, nicht reduzierend. Eiweiß reichlich vorbanden.

5. IV. Das Tier liegt andauernd ruhig, zusammengekauert. Im Harn reichlich Eiwweiß.

6. IV. Exitus letalis. — Bei der Sektion findet sich starker Ikterus. Die Nieren hyperämisch, mikroskopisch ist parenchymatöse und fettige Degeneration der Epithelien nachweisbar, in den Harnkanälchen hyaline Zylinder. Im Magen starke Hyperämie. Die Leber blutreich, mikroskopisch stellenweise leichte parenchymatöse Degeneration.

In zwei weiteren Versuchen war sowohl der Verlauf als auch r Sektionsbefund völlig analog. In einem Versuche kam es nach ngabe einer größeren Menge des Stoffes (1,5 g) bei einem 4000 g hweren Hunde zu Erbrechen und einem Aufregungsstadium, ähnh wie wir es beim Benzidin beobachtet haben.

Literatur.

1) Zinin, Journal f. prakt. Chem. 36, 93. Liebigs Annalen d. Chem. ', 376.

2) vgl. P. Griess und C. Duisberg, Deutsche chem. Ges. Berichte XXII, ›9. — P. Böttiger, D. R. P. Nr. 28753.

3) Vgl. R. Nietzki, Chemie d. organischen Farbstoffe. Berlin 1906, p. 83.

4) Paul Ehrlich, Berl. klin. Wochenschr. 1904.

5) M. Nicolle et F. Mesnil, Traitement des Trypanosomiases par les ıleurs de Benzidine. Ann. de l'institut Pasteur 1906.

6) O. und R. Adler, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 41, H. 1 u. 2, p. 59.

7) Schumm und Westphal, Über d. Nachw. v. Blutfarbstoff mit Hilfe r Adlerschen Benzidinprobe, Zeitschr. f. physiol. Chem. 46, 510. — Schleıger und Holst, Deutsche med. Wochenschr. 1906, Nr. 36.

8) K. Klingenberg, Studien über die Oxydationen aromatischer Subnzen im tierischen Organismus. Inaug. Dissertation. Rostock 1891.

9) Nölting, D. chem. Ges. Ber. IX, p. 1797.

10) Roscoe und Schorlemmer, Lehrb. d. org. Chem. III 1906, p. 317.

11) Ad. Claus und E. Risler, D. chem. Ges. Ber. XIV, 82.

12) Siehe Weber, Ergebnisse d. Physiol. 1904, I, 265.

13) D. Lawrow, D. chem. Ges. Ber. 33, 2344.

14) R. Heinz, Zieglers Beiträge Bd. 29. — Marchand, Arch. f. exp. th. u. Pharm. 22, 201. 23, 273 u. 347. Riess, Berl. klin. Wochenschr. 1882, . 52.

15) Hammarsten, Lehrbuch d. physiol. Chem. 1907, pag. 652.

16) Vgl. Pohl, Ergebnisse d. allg. Pathologie und path. Anat. Jahrg. II; oxikationen.

17) Stadelmann, Arch. f. e. Path. u. Pharm. 14, 231; 16, 118; 23, 427.

18) O. Fischer u. E. Hepp, D. chem. Ges. Ber. 20, 2477. — O. Fischer, chem. Ges. Ber. 32, 248.

19) R. Willstätter u. L. Kalb, D. chem. Ges. Ber. 38, 1238. 39, 3474.

IX.

Aus dem Laboratorium für experimentelle Pharmakologie zu Straßburg.

201. Über künstliche Melanine und das natürliche, im Organismus des Maikäfers vorkommende Melanin.

Von

Dr. med. Tomotaro Ishizaka (Japan).

Wenn man Eiweißstoffe in geeigneter Weise mit mehr oder weniger koncentrierten Mineralsäuren längere Zeit erhitzt, so entstehen schwarze oder schwarzbraun gefärbte Produkte, welche mit den physiologischen und pathologischen Melaninen in allen wesentlichen Eigenschaften übereinstimmen. Sie sind löslich in Alkalien und aus diesen Lösungen durch Säuren fällbar. Sie enthalten Stickstoff und Schwefel, den letzteren in weit größeren Mengen als die Eiweißstoffe, aus denen sie entstanden sind. Charakteristisch ist, daß nicht zwei die gleiche Zusammensetzung in bezug auf das Atomverhältnis von C : H : N : S : O haben. Charakteristisch für alle ist ferner der geringe H-Gehalt bei verhältnismäßig hohem O-Gehalt, wie die folgende Zusammenstellung zeigt, in welcher die Zahl der Atome H u. O berechnet ist, welche auf je 100 Atome C kommen.

	C :	H :	O
1. Melanoidin aus Serumalbumin (Schmiedeberg)[1]	100	96	24
2. „ „ Witteschem Pepton (Schmiedeberg)[1]	100	96	31
3. Sarkomelanin (Schmiedeberg)[1]	100	94	38
4. Sarkomelanin (Heintz)[2]	100	73	41
5. Hippomelanin (Berdez und Nencki)[3]	100	75	34
6. Phymatorhusin (Berdez und Nencki)[4]	100	83	29

1) Schmiedeberg, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. Bd. XXXIX, S. 67—77. 1897.

2) Heintz, Virchows Archiv, Bd. I, S. 477, 1847.

3) Berdez u. Nencki, Archiv f. exp. Path. u. Pharm., Bd. XX, S. 353, 1886.

4) Berdez und Nencki, ebenda, S. 318.

7. Sarkomelanin (Mörner)[1]	100	119	19
8. Hippomelanin (Miura)[2]	100	128	42
9. Sarkomelanin (Brandl und Pfeiffer)[3]	100	88	36
0. Epidermispigment (Abel und Davis)[4]	100	84	38
1. Pigment aus Haaren (Abel und Davis)[4]	100	65	38
2. Melanin aus dem Urin eines Kranken mit allgemeiner Melanose (Hensen)[5]	100	123	20
3. Melaninsäure aus schwarzem Pferdeschweif (Jones)[6]	100	69	32
4. Melanin der Augenhäute (Landolt)[7]	100	69	34
5. Melanin aus Antialbumid (mit 10 prozentiger H_2SO_4 79 Std. gekocht) (Chittenden und Albro)[8]	100	153	26
6. Melanin aus Antialbumid (mit 10 prozentiger H_2SO_4 110 Std. gekocht) (Chittenden und Albro)[8]	100	153	23
7. Melanin aus Hemipepton (mit 10 prozentiger H_2SO_4 98 Std. gekocht) Chittenden und Albro)[8]	100	77	26
8. Melanin aus Tyrosin durch Lepidopteren-Tyrosinase (v. Fürth und Schneider)[9]	100	96	36
9. Melanoidin aus Serumalbumin (Samuely)[10]	100	97	27
0. Melanin aus Nucleïnsäure des Weizenembryos (mit 20 proz. H_2SO_4 gekocht) (Osborne u. Harris)[11]	100	76	30
1. Melanin aus Nucleïnsäure des Weizenembryos (mit 12 proz. HCl gekocht) (Osborne und Harris)[11]	100	83	32
2. Melanin aus einer melanotischen Leber (Wolff)[12]	100	113	34
3. Pigmentsäure aus schwarzem Roßhaar (Spiegler)[13]	100	115	24
4. Pigmentsäure aus schwarzer Schafwolle (Spiegler)[13]	100	147	43
5. Melanin aus Tyrosin durch Pilz-Tyrosinase (v. Fürth und Jerusalem)[14]	100	94	50

Die Eiweißstoffe Fibrin, Paraglobulin, Myosin, Serumalbumin ıthalten dagegen auf 100 Atome C 150—159 Atome H und 30 tome O.

1) Mörner, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XI, S. 115, 1887.
2) Miura, Virchows Archiv, Bd. CVII, S. 250, 1887.
3) Brandl und Pfeiffer, Zeitschr. f. Biologie, Bd. XXVI, S. 348, 1890.
4) Abel and Davis, The Journal of exp. med. Vol. I, Nr. III, p. 361, 1896.
5) Hensen. Archiv f. klin. Med., Bd. LXII, S. 354, 1899.
6) Jones, The american Journal of Physiology, Vol. II, p. 385. 1899.
7) Landolt, Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. XXVIII, S. 203, 1899.
8) Chittenden and Albro, The american Journal of Physiology, Vol. II, 299—301, 1899.
9) v. Fürth und Schneider, Beiträge z. chem. Physiol. u. Path., Bd. I, 238, 1901.
10) Samuely, ebenda, Bd. II, S. 369, 1902.
11) Osborne und Harris. Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XXXVI, 117, 1902.
12) Wolff, Beitr. z. chem. Physiol. u. Path., Bd. V, S. 480, 1904.
13) Spiegler, ebenda, Bd. IV, S. 49 und 51. 1904.
14) v. Fürth und Jerusalem, ebenda, Bd. X, S. 167, 1907.

In den Fällen, in denen in der vorstehenden Zusammenstellung die Melanin-Präparate bedeutend mehr H- als C-Atome enthalten, handelt es wahrscheinlich um eine Beimengung von Eiweißstoffen oder wie in Nr. 24 von Hornsubstanz.

Die Melanine sind also im Vergleich zu den Eiweißstoffen H-ärmer und zum Teil O-reicher als diese. Es läßt sich noch nicht entscheiden, ob die Melanine durch eine direkte H-Entziehung oder durch Abspaltung C-armer und H-reicher Produkte entstehen. Darüber müssen weitere Untersuchungen Aufschluß geben.

Aus den bisherigen Untersuchungen geht aber soviel mit Sicherheit hervor, daß bei der Melaninbildung besondere Atome oder Atomgruppen eine wichtige Rolle spielen. Vor allem ist es der Schwefel, welcher die Melaninbildung begünstigt. Das ergibt sich aus dem Umstand, daß die Melanine im Vergleich zu den Eiweißstoffen sehr schwefelreich sind. Der Schwefel verhindert also die glatte hydrolytische Bildung farbloser Spaltungsprodukte. Außer dem Schwefel kommen in dieser Beziehung weiter in Betracht die aromatischen Gruppen der Eiweißstoffe. Samuely[1]) wies eine solche im Melanoidin aus Eiweiß nach. Es ließ sich annehmen, daß das Jod in dem Badeschwamm und dem Jodeiweiß der Thyreoidea sowie die Phosphorsäure der Nucleïnsäure die gleiche Rolle bei der Melaninbildung aus diesen Substanzen spielen Wenn diese Annahme von der Bedeutung des S, J und der Phosphorsäure zutreffend ist, so muß ein schwefelarmer Eiweißstoff weniger Melanin geben, als ein schwefelreicher, und es müssen, wie es schon zum Teil bekannt ist auch jod- und phosphorhaltige Melanine entstehen. Darauf sind meine Untersuchungen gerichtet. Bei dem Erhitzen der auf die Melaninbildung zu untersuchenden Substanzen kommt es darauf an, die Koncentration der Säure derartig zu wählen, daß keine Verkohlung eintritt, d. h. daß keine oder nur möglichst wenig in Alkalien unlösliche dunkel gefärbte Produkte entstehen.

Allgemeines über die Darstellung der Melanine.

Eine zur Melanindarstellung dienende Substanz wird in großen Glasballons mit koncentrierter Salzsäure stundenlang, meistenteils mit Rückflußkühler, im Sieden erhalten. Nachdem der Kolbeninhalt sich intensiv dunkel verfärbt hat und tiefbraune Flocken sich ausgeschieden haben, läßt man die Flüssigkeit abkühlen, bringt sie in eine Porzellanschale, neutralisiert mit Natronlauge und engt sie auf dem Wasser-

1) Samuely, Beiträge zur chem. Physiol. und Path., Bd. II, S. 355 bis 388, 1902.

bade ein. Dann setzt man ihr eine reichliche Menge Kupferacetatlösung zu, wonach das Melanin als flockige Kupferverbindung quantitativ ausfällt. Das melaninsaure Kupfer wird auf einem Filter gesammelt, zuerst mit kaltem, dann mit heißem Wasser gewaschen, darauf in verdünntem heißem Ammoniak gelöst. Dabei bleibt meist ein Teil ungelöst. Dieser wird samt dem Filter in einen Glasballon gebracht, mit verdünnter Kalilösung einige Zeit auf dem Wasserbade erwärmt und filtriert. Die vereinigten alkalischen Lösungen des Melanins werden mit Essigsäure angesäuert und auf dem Wasserbade erwärmt, wobei sich das freie Melanin flockig ausscheidet. Nach dem Absetzenlassen wird der Niederschlag wieder auf einem Filter gesammelt und gut ausgewaschen. Das einmal in Kali gelöste und durch Säure wieder gefällte Melanin löst sich nunmehr leichter in Ammoniak als vorher.

Das Auflösen in Ammoniak und Ausfällen mit Essigsäure wird einige Male wiederholt und die letzte Fällung statt mit Essigsäure mit Salzsäure vorgenommen, weil es scheint, daß bei der Fällung mit Essigsäure die feinen Partikelchen des Melanins leichter durch die Poren des Filtrierpapiers durchgehen, als bei dem Ausfällen mit Salzsäure.

Das Auflösen und Ausfällen wird so oft wiederholt, bis das Filtrat von dem mit Salzsäure gefällten Melanin völlig wasserhell oder wenigstens nur hellgelb gefärbt abfließt. Die auf einem Filter gesammelte Substanz wird nun erst mit heißem Wasser bis zum Verschwinden der Chlorreaktion, dann mit Alkohol und Aether und und schließlich wieder mit heißem Wasser ausgewaschen.

Vor der Analyse wurde das so erhaltene Melanin, das amorphe, homogene, schwarze Körner bildete, im Vacuum über Schwefelsäure bei 100° C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

Jede Schwefel-, Jod- und Phosphorbestimmung geschah immer nach dem Verbrennen mit Soda und Salpeter.

I. Melanin aus Gelatine.

Präparat I. Es wurden 379 g gute käufliche Gelatine während 24 Stunden ohne Rückflußkühler mit 3500 ccm 10proz. Salzsäure gekocht. Die ganze Ausbeute betrug nur 0,189 g Melanin, was 0,05 Proz. der angewandten Gelatine ausmacht.

Präparat II. Von derselben Gelatine wurden 443 g mit 5733 ccm 16proz. Salzsäure 40 Stunden lang gekocht. Es wurden 0,9089 g gereinigtes Melanin erhalten, entsprechend 0,205 Proz.

0,5179 g Melanin von Präparat II gaben
0,051 g $BaSO_4$ = 0,007 g S = 1,35 Proz.

Präparat III. In ähnlicher Weise wurde noch ein drittes Präparat dargestellt, indem 500 g Gelatine mit 6 l. 20proz. HCl 50 Stunden gekocht wurden. Das so erhaltene Melanin betrug 0,5611 g, also 0,11 Proz. der angewandten Gelatine.

0,3649 g von diesem Präparat gaben
0,0613 g $BaSO_4$ = 0,0084 g S = 2,30 Proz.

Es scheint mir bemerkenswert, daß das durch längeres Kochen mit koncentrierter Salzsäure dargestellte Melanin Präparat III mehr Schwefel enthält, als das Präparat II, welches mit 16prozentiger Salzsäure erhalten war. In letzterem Falle ist wohl eine glattere hydrolytische Spaltung in schwefelhaltige Produkte bewirkt worden, wodurch für das Melanin weniger Schwefel übrig blieb.

II. Melanin aus Federn.

Weiter habe ich als Ausgangsmaterial für die Melaninbildung weiße, von den Kielen befreite Gänsefedern gewählt. Von denselben wurden 160 g zuerst mit Wasser, dann mit verdünnter Kalilauge und endlich wieder mit Wasser gereinigt. Nachdem sie mit 3120 ccm 10proz. Salzsäure 49 Stunden, unter häufiger Erneuerung des verdampften Wassers, gekocht waren, erhielt ich 1,2705 g Melanin, was 0,794 Proz. der angewandten Menge der Federn entspricht. Von diesem Präparat habe ich zwei Schwefel-Bestimmungen ausgeführt.

I. 0,3806 g Melanin gaben
0,1997 g $BaSO_4$ = 0,0274 g S = 7,20 Proz.
II. 0,4209 g Federmelanin gaben
0,2278 g $BaSO_4$ = 0,0304 g S = 7,22 Proz.

III. Melanin aus Badeschwamm.

Es wurden 193 g gewöhnliche Badeschwämme, durch Klopfen und Waschen mit Wasser, verdünnter Kalilauge und Salzsäure gereinigt, mit 3 l 10 prozentiger Salzsäure 18 Stunden lang gekocht. Die Menge des dabei gebildeten Melanins betrug 3,6851 g., welche 1,9 Proz. der gebrauchten Schwämme entsprechen, während Abderhalden und Strauß[1]) von 300 g Spongin 8,89 g (2,9 Proz.) Melanin erhielten, indem sie das Spongin in der dreifachen Menge koncentrierter Salzsäure vom spezifischen Gewicht 1,19 bei Wasserbadtemperatur lösten und zur vollständigen Hydrolyse die Lösung 6 Stunden kochten.

0,4415 g dieses von mir dargestellten Präparates gaben
0,1987 g J = 4,50 Proz.

1) Abderhalden und Strauss, Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. XLVIII S. 50, 1906.

Dieser Jodgehalt stimmt mit dem von Rosenfeld[1]) angegebenen (4,86 Proz. Jod) gut überein.

Außer der Hauptmasse des Melanins habe ich eine verhältnismäßig große Menge in heißem Wasser lösliches Melanins erhalten. Da diese Substanz halbfertiges Melanin zu sein schien, habe ich es nochmal mit 900 ccm 22 Proz. Salzsäure 70 Stunden gekocht. Doch ging wegen einer zufälligen Beschädigung des Gefäßes der größte Teil dieses Spongomelanins verloren, so daß der Rest desselben allein zu einer J-Bestimmung nicht ausreichte. Ich habe deshalb dieses durch nochmaliges Kochen dargestellten Melanin mit dem in heißem Wasser löslichen, wahrscheinlich halbfertigen Melanin gemischt, und diese Gemenge zur Jodbestimmung verwendet.

0,1423 g Substanz gaben
0,00595 g J = 4,17 Proz.

IV. Melanin aus Artolin.

Präparat I. 22 g salzsaures Artolin, welches mittelst des Morishimaschen Verfahrens[2]) aus ungarischem Weizenmehl dargestellt war, wurden mit 840 ccm 10 proz. HCl 19 Stunden im Sieden erhalten. Die gebildete Melaninmenge betrug 0,2323 g = 1,05 Proz.

Präparat II. 31,13 g in derselben Weise dargestelltes salzsaures Artolin habe ich diesmal mit 1540 ccm 20 proz. HCl 84 Stunden gekocht und bekam 0,2137 g Melanin (= 0,6846 Proz.). Diese Menge gab 0,052 g $BaSO_4$ = 0,0071 g S = 3,34 Proz.

V. Melanin aus Nucleïnsäure.

Schon vor 8 Jahren hat Prof. Schmiedeberg[3]) hervorgehoben, daß sich die Grundsubstanz der Nucleïnsäure durch die große Neigung zur Melaninbildung auszeichnet und daß daraus phosphorhaltiges Melanin entsteht. Osborne und Harris[4]) dagegen geben an, daß das Melanin aus der Nucleïnsäure des Weizenembryos und nach Levene[5]) das aus der Milznucleïnsäure phosphorfrei seien.

Als Material für die Darstellung diente mir frische Thymusdrüse vom Kalb. Die Darstellung erfolgte nach dem von Prof. Schmiedeberg[6]) neuerdings beschriebenen Verfahren.

Präparat I. Nucleïnsaures Kupfer wurde in einer reichlichen Menge 20 proz. HCl durch Erwärmen auf dem Wasserbade gelöst, dann

1) Rosenfeld, Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. XLV, S. 53, 1901.

2) Morishima, Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. XLI, S. 349, 1898.

3) Schmiedeberg, ebenda, Bd. XLIII, S. 82 u. 83, 1899.

4) Osborne und Harris, Zeitschrift f. physiol. Chemie, Bd. XXXVI, S. 117, 1902.

5) Levene, ebenda, Bd. XLV, 1905.

6) Schmiedeberg, Archiv f. exp. Path. u. Pharm., Bd. LVII, S. 309, 1907.

67 Stunden gekocht. Auf Zusatz von Natronlauge bis zur neutralen Reaktion fiel das gebildete Melanin als eine Kupferverbindung völlig aus, weil diesmal eine Kupferverbindung von vornherein verwendet wurde. Zur weiteren Reinigung wurde Kali statt Ammoniak gebraucht. Phosphate wurden durch die Fällung mit Salzsäure entfernt.

0,6642 g Substanz gaben
0,0050 g $Mg_2P_2O_7$ = 0,0022 g P_2O_5 = 0,48 Proz.

Präparat II. Statt nucleïnsaures Kupfer mit konzentrierter Salzsäure längere Zeit zu kochen, wurde es mit der letzteren nur auf dem Wasserbade erhitzt.

Das nucleïnsaure Kupfer wurde in einer möglichst kleinen Menge Kalilauge gelöst, mit heißer koncentrierter Salzsäure übergossen, auf dem Wasserbade zur Trocknen verdunstet, danach wurde von neuem Säure zugesetzt und das Eindampfen noch zweimal wiederholt.

0,2157 g Substanz gaben
0,0035 g $Mg_2P_2O_7$ = 0,0022 g P_2O_5 = 1,02 Proz.

VI. Melanin aus Heminucleïnsäure.

Zur Gewinnung der Heminucleïnsäure nach dem von Alsberg[1]) beschriebenen Verfahren diente ebenfalls Nucleïnsäure aus Kalbsthymus. Um die zur Abspaltung der Purinbasen gebrauchte Schwefelsäure zu entfernen, wurde diesmal Bleioxyd benutzt.

Die erhaltene Heminucleïnsäurelösung wurde ohne Zusatz von irgend einer Säure längere Zeit im Sieden erhalten. Nach 20-tägigem Kochen wurden die gebildeten Melaninflocken auf einem Filter gesammelt und das noch tief dunkelbraun gefärbte Filtrat so lange auf dem Wasserbade erhitzt, bis die Flüssigkeit nicht mehr dunkel gefärbt erschien, was etwa 20 Tage in Anspruch nahm. Aus der aus ca. 5 kg Kalbsthymus dargestellten Heminucleinsäure wurde nur eine zur Analyse ausreichende Menge des gereinigten Melanins erhalten. Ich wiederholte daher den Versuch mit einer größeren Menge des Materials. Die vereinigten Produkte wurden zur P-Bestimmung verwandt.

I. 0,5092 g Substanz gaben
0,0065 g $Mg_2P_2O_7$ = 0,0041 g P_2O_5 = 0,80 Proz.
II. 0,5595 g Substanz gaben
0,0077 g $Mg_2P_2O_7$ = 0,0049 g P_2O_5 = 0,79 Proz.

Aus allen diesen Versuchen ergibt sich, daß die Melaninbildung von dem S- und Jodgehalt abhängig ist. Denn die schwefelarme Gelatine gibt viel weniger Melanin als die schwefelreicheren Federn und das Artolin. Auch enthält das Melanin aus den letzteren weit

1) Alsberg, Archiv f. exp. Path. u. Pharm., Bd. LI, S. 239, 1904.

mehr Schwefel[1]) als das aus der Gelatine. Ebenso ist der Jodgehalt des Spongomelanins ein hoher. Dagegen scheint die Phosphorsäure bei der Melaninbildung aus Nucleïnsäure keine Rolle zu spielen. Der Grund dafür ist wohl darin zu suchen, daß der Phosphor in der Nucleïnsäure als Phosphorsäure in esterartiger Bindung enthalten ist und daher leicht durch Hydrolyse abgespalten wird, was bei dem Schwefel und Jod der Eiweißstoffe und des Badeschwamms nicht der Fall ist.

VII. Natürliches Melanin aus Maikäfern.

Die Frage, ob die Nucleïnsäure auch in dem Körper niederer Tiere enthalten ist, veranlaßte mich, Schnecken und Maikäfer auf Nucleïnsäure zu untersuchen. In beiden Tierarten konnte die letztere nicht nachgewiesen werden. Ich erhielt aber dabei aus Maikäfern eine verhältnismäßig große Menge einer schwarzbraunen, amorphen Substanz, welche das gleiche chemische Verhalten zeigte, wie die Melanine.

Viele hundert Maikäfer wurden mit Chloroform getötet, klein zerhackt, mit einer reichlichen Menge von 20 proz. Kocksalzlösung und einer kleinen Menge mit Essigsäure schwach angesäuerten Kaliumacetatlösung gekocht und heiß filtriert. Das dunkelbräunlich gefärbte, aber klare Filtrat wurde mit einem Überschuß von Kupferchloridlösung versetzt, wobei ein tief dunkelbrauner Niederschlag entstand. Nach dem Abfiltrieren und Auswaschen mit Wasser wurde der Filterrückstand in einer reichlichen Menge Kali gelöst und die Lösung mit Essigsäure angesäuert. Dabei entstand sofort wieder ein tief braun gefärbter Niederschlag in reichlicher Menge. Das vom letzteren abfiltrierte, aber noch ziemlich bräunliche Filtrat enthielt eine geringe Menge der mit Kupferchlorid fällbaren braunen Substanz. Mit verdünnter Salzsäure vom Kupfer befreit, war diese Substanz in der mit Essigsäure schwach angesäuerten Kaliumacetatlösung unlöslich.

Die mit Essigsäure ausgefällte melaninartige Substanz wurde wieder in Kali gelöst, mit einer reichlichen Menge Essigsäure versetzt und zum Sieden erhitzt, um Eiweißstoffe zu entfernen, welche in der Essigsäure gelöst bleiben. Das abfiltrierte Melanin wurde dann von neuem in Kali gelöst und mit Essigsäure in der Hitze ausgefällt, und dieses Verfahren neunmal wiederholt. Zuletzt war das anfangs dunkle Filtrat nur hellgelb. Um sicher alles Eiweiß zu entfernen, fällte ich das Melanin aus der alkalischen Lösung mit Kupferchlorid,

1) Schmiedeberg, a. a. O.

wobei Eiweiß gelöst bleibt. Die ausgewaschene Kupferverbindung des Melanins wurde dann mittelst verdünnter Salzsäure vom Kupfer befreit, mit Wasser, Alkohol und Äther ausgewaschen und getrocknet.

Die so gewonnene schwarzbraune, amorphe Substanz enthält Schwefel, aber keinen Phosphor und gab nach dem vom Prof. Schmiedeberg[1]) angegebenen Verfahren keine Biuretreaktion.

Das Präparat lieferte bei den Analysen folgende Zahlen:

1. 0,2186 g Substanz gaben
   0,4163 g CO_2 = 51,94 Proz. C und 0,1061 g H_2O = 5,429 Proz. H
2. 0,3148 g Substanz gaben
   0,602 g CO_2 = 52,15 Proz. C und 0,1584 g H_2O = 5,63 Proz. H.
3. 0,3100 g Substanz gaben nach Kjeldahl
   0,03435 g N = 11,04 Proz. N.
4. 0,3670 g Substanz gaben
   0,04013 g N = 10,93 Proz. N.
5. 0,5709 g Substanz gaben
   0,0727 g $BaSO_4$ = 0,00998 g S = 1,74 Proz. S.
6. 0,3953 g Substanz lieferten
   0,0548 g $BaSO_4$ = 0,007525 g S = 1,90 Proz. S.

Aus dem Mittel dieser Zahlen ergibt sich die folgende procentische Zusammensetzung:

C	52,04
H	5,53
N	10,99
S	1,82

Diese Zahlen geben die schwefelfreie Grundformel[2]).

$C_{11}H_{14}N_2O_5$

	ber.	gef.
C	51,96	52,04
H	5,51	5,53
N	11,02	10,99

Nimmt man diese Formel 7 mal und setzt in sie an Stelle von 2 Atom O 1 Atom S, so enthält man für dieses Melanin die Zusammensetzung

$C_{77}H_{98}N_{14}SO_{33}$

	ber.	gef.
S	1,80	1,82

Dieses Produkt ist ein wirkliches Melolontha-Melanin, welches reichlich O und nur wenig mehr H- als C-Atome enthält.

Straßburg, Oktober 1907.

1) Schmiedeberg, Archiv f. exp. Path. u. Pharm., Bd. LVII, S. 334, 1907.
2) Vergl. Schmiedeberg, ebenda, Bd. XXXIX, S. 1, 1897.

X.

Aus der inneren Abteilung von Dr. med. T. Dunin im Krankenhause Kindlein Jesu zu Warschau.

Experimentelle Untersuchungen über Blutalkalescenz und Acidose.

II. Mitteilung[1]). Über den Einfluss von Alkalien auf die Alkalescenz des normalen Blutes und desjenigen bei endogener Acidose.

Von

Dr. Anastazy Landau, Assistenten der Abteilung.

Obwohl die Darreichung von Alkalien schon lange in der Therapie innerer Krankheiten eine Anwendung findet und zwar, um die Alkalescenz des Blutes und der Körpersäfte zu heben, haben wir doch bis jetzt keine Sicherheit, daß dieses Mittel in der Tat die erwünschte Wirkung besitzt.

Bis zu den letzten Zeiten fehlten entsprechende Versuche sowohl an Menschen wie an Tieren. Die Experimente von Freudberg[2]) der nach Darreichung von kleinen Säure- oder Alkalimengen gewisse Veränderungen der Blutalkaleszenz fand, können wir nicht als beweisend betrachten, da sich dieser Verfasser einer mangelhaften Methodik bediente. Hamburger[3]) fand beim Pferde nach intravenöser Einführung von 2 Liter einer isotonischen Lösung von Na_2SO_4 mit 1 proz. Schwefelsäure resp. 0,2 Proz. Natronlauge eine geringe Verminderung resp. Steigerung der Blutalkaleszenz. Raimondi[4]) fand bei Kaninchen nach mehrtägiger Darreichung von Natriumkarbonat eine geringe Erhöhung des CO_2-Gehaltes im Blute, wenn die Untersuchung eine $^1/_2$—1 Stunde nach der letzten Dosis von Alkali stattfand; schon nach 12 Stunden kehrte der CO_2-Gehalt des Blutes wieder zur Norm zurück. Wenn wir noch hinzufügen, daß Magnus Levy[5]) in zwei Fällen von leichtem Diabetes keinen Ein-

1) I. Mitteilung, s. Arch. f. exp. Pathol. u. Pharm., Bd. 52.

2) Freudberg, Virchows Archiv, Bd. 125, S. 566.

3) Hamburger, Osmotischer Druck und Jonenlehre, Bd. I, S. 328.

4) Raimondi, Ann univers. di medicina e chirurgia, 1884. Cit. noch v. Noorden, Pathologie d. Stoffwechsels, Berlin 1907, Bd. II, S. 675.

5) Magnus-Levy, Die Oxybuttersäure und ihre Beziehungen zum Coma diabeticum. Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. 42.

fluß des Natriumkarbonats auf die Blutalkaleszenz konstatieren konnte, und daß in zwei Fällen von Coma diabeticum die Blutalkalescenz trotz Darreichung von Alkalien rapide abnahm, so wird damit die ganze Literatur über das uns hier interessierende Thema erschöpft.

In meinen eigenen Untersuchungen, deren Ergebnisse weiter unten eine nähere Besprechung finden sollen, habe ich mich bemüht, auf experimentellem Wege die Frage zu lösen, ob eine Hebung der Blutalkalescenz überhaupt möglich, oder ob es nur eine Redensart ist, die nach Garrod in verba Magistri stets Wiederholung findet; wie bekannt, hat Garrod die Alkalien in die Therapie der Gicht eingeführt und zwar aus dem Grunde, da die verminderte Blutalkaleszenz die Harnsäureablagerungen verursachen sollte. In diesem Falle interessierte mich aber nicht die Gicht, für die eine Acidose vollkommen hypothetisch blieb, sondern diejenige Acidose, welche heute eine unbestreitbare Tatsache darstellt und zwar die diabetische. Die Hauptfrage bei diesbezüglichen Untersuchungen lässt sich folgenderweise formulieren: Sind die Alkalien imstande bei endogener experimenteller Acidose die Blutalkaleszenz zu heben resp. dieselbe auf normaler Höhe zu erhalten? Die Beantwortung dieser Frage wird uns zeigen, inwiefern die Bekämpfung einer Acidose durch Darreichung von Alkalien begründet ist, wie weit die Grenzen für solch eine Therapie der diabetischen Acidose und warum diese Therapie beim Coma diabeticum gewöhnlich versagt.

Meine Versuche, ähnlich wie diejenigen im Jahre 1905, habe ich an Kaninchen ausgeführt, bei denen ich eine Acidose auf zweifachem Wege hervorrief: in einer Untersuchungsreihe rasch durch subkutane Phosphorinjektionen, in einer anderen langsam durch Hungern. Abgesehen von schnellerer Entstehung unterscheidet sich die durch Phosphor hervorgerufene Acidose von derjenigen beim Hungern bedeutend. Die Phosphoracidose ist durch den toxischen Eiweiß- und Fettzerfall bedingt, durch ungenügend oxydierte Zerfallsprodukte von saurer Beschaffenheit (Milchsäure, Aminosäuren); die Hungeracidose wird dagegen hauptsächlich durch Schwefelsäure hervorgerufen, welche durch Oxydation des im Eiweißmolekül enthaltenen Schwefels herrührt, sowie teilweise durch Phosphorsäure, welche bei der Hydrolyse der Nukleïnkörper entsteht. Bei Kaninchen spielen beim Hungern außer der Schwefel- und Phosphorsäure wahrscheinlich auch andere Körper eine gewisse Rolle und zwar organische Substanzen, wie z. B. die Acetonkörper; die Untersuchungen von Halpern und mir[1]) über den Acetongehalt der Organe zeigen

1) Halpern und Landau, Zeitschr. f. exp. Path. u. Ther., Bd. III, 1906.

aber, daß diese Körper in der Entstehung der Acidose wohl sehr unbedeutend beteiligt sind.

Die Methodik der Blutuntersuchung war in diesen meinen Versuchen genau dieselbe wie in den früheren. In meiner früheren Mitteilung[1]) finden sich die Details, hier will ich nur die Hauptgründe der von mir benutzten Methodik wiederholen: ich bestimmte die Gesamtalkaleszenz des Blutes und des Plasmas nach der Methode von Zuntz-Loewy (Filtration mit $^1/_{20}$ norm. Schwefelsäure unter Benutzung des Lakmoids als Indicators), dann die Mineralalkaleszenz des Blutes und des Plasmas nach Kraus (das Blut wird durch Äther lackfarben gemacht, das Eiweiß mittels einer gesättigten Ammonsulfatlösung niedergeschlagen, und das enteiweißte Filtrat titriert); das Verhältnis des Plasmas zu den Blutkörperchen bestimmte ich nach der Methode von Bleibtreu und schließlich berechnete ich die organische Alkaleszenz des Blutes und des Plasmas sowie alle Alkaleszenzarten der Blutkörperchen. Außerdem bestimmte ich den N-Gehalt des Blutes und des Plasmas nach Kjeldahl und berechnete nach der Formel von Bleibtreu den N-Gehalt der Blutkörperchen. In den Tabellen habe ich nur eine Modifikation eingeführt und zwar berechnete ich die organische Alkaleszenz nicht nur auf 100 ccm Blut resp. Plasma und Blutkörperchen, sondern auch auf 1 g N. Diese von Rzentkowski[2]) vorgeschlagene Berechnung erleichtert bedeutend die Orientierung, ob und in welchem Grade die organische Alkaleszenz von dem Eiweißgehalt abhängig ist.

Wir kommen jetzt zu der genauen Besprechung der erhaltenen Resultate.

Die erste Untersuchungsreihe betrifft gesunde Kaninchen. Dieselben erhielten täglich 4 g Natriumkarbonat in einer 2 proz. Lösung. Davon führte ich die eine Hälfte in den Magen hinein, die andere injizierte ich subkutan. Absichtlich habe ich keine größeren Alkalidosen angewandt und zwar um den beim Menschen vorkommenden Verhältnissen näher zu treten. Bei einer Tagesdosis von 4 g Na_2CO_3 erhalten die Kaninchen ungefähr 2 g pro Kilo Körpergewicht, was bei einem Menschen von 60 Kilo einer Tagesdosis von 100—120 g entspricht; die Einführung einer solchen Alkalimenge beim Menschen, wenn sie auch nicht unmöglich ist, stellt aber große Schwierigkeiten dar. Die Kaninchen erhielten die Sodalösung 4 Tage hintereinander; am Tage der Blutentnahme wurde die Lösung eine Stunde vor der Operation eingeführt.

---

1) l. c. 2) Rzentkowski, Archiv f. exp. Path. u. Pharm., 1906.

Die Analyse der ersten Untersuchungsreihe (s. die Tab. I u. V am Schluß der Arbeit) ist sehr lehrreich. Wenn wir nun alle Arten von Gesamt-Blutalkalescenz in Betracht ziehen, so müßten wir sagen, daß dieselbe unter dem Einfluß von Alkalien keinen beträchtlichen Veränderungen unterlag. Wir erhielten nämlich Zahlen, die im Vergleich zu den Normalwerten[1]) nur innerhalb der Fehlergrenzen liegende Unterschiede zeigen (Blutalkalescenz bei Kaninchen mit $Na_2 CO_3$: Gesamtalk. 362, Mineralalk. 180,2, organische Alk. 181,2; Blutalkalescenz bei normalen Kaninchen: Gesamtalk. 372,5, Mineralalk. 171,8, organische Alk. 200,7 mg Na ON in 100 ccm Blut). Ganz anders, wenn wir das Plasma und die Blutkörperchen mitbetrachten: wir finden dann, daß sowohl die Alkalescenz des Plasmas wie diejenige der Blutkörperchen gestiegen ist. Dies bezieht sich besonders auf das Plasma, dessen alle Arten von Alkalescenz bedeutend vermehrt erscheinen. In Zahlen stellt sich das folgendermaßen dar: 36 mg Na ON für die Gesamtalkalescenz, d. h. eine Steigerung um über 20 Proz.; 28 mlg. Na OH für die Mineralalkalescenz, d. h. eine Steigerung um beinahe 20 Proz. und 10,7 mg für die organische Alkalescenz, d. h. eine Steigerung um 43 Proz. Die Steigerung der Alkalescenz von Blutkörperchen ist nur unbedeutend (45 mg NaHO in 100 ccm) und hängt lediglich von der organischen Alkalescenz ab, da die minerale fast keinen Veränderungen unterlag. Die Erhöhung der organischen Alkalescenz des Blutplasmas tritt ebenso deutlich hervor im Verhältnis zum Stickstoff: bei Kaninchen, die Natriumkarbonat erhielten, entspricht einem Gramm Plasmastickstoff eine Alkalescenz von 40 mg Na OH, bei normalen Kaninchen dagegen nur 28 mg. Für die Blutkörperchen sind die Unterschiede viel geringer: Bei Kaninchen mit mit $Na_2 CO_3$ einem Gramm N entspricht 89 mg Na OH, bei normalen dagegen — 87.

Wir sehen also, daß unter dem Einfluß von 16 grm Natriumkarbonat, welche im Laufe von 4 Tagen eingeführt wurden, bei Kaninchen eine verhältnismäßig beträchtliche Steigerung der Plasmaalkalescenz eintrat; diese Steigerung äußerte sich aber auf dem Gesamtblute garnicht. Diese anscheinend unbegreifliche Tatsache wird aber vollständig klar, wenn wir das Verhältnis vom Plasma zu den Blutkörperchen in Betracht ziehen. Es zeigt sich, daß unter dem Einfluß der eingeführten 200 ccm Wasser täglich bei Kaninchen eine gewisse Hydraemie eintrat: der Blutkörperchengehalt des Blutes sank von normalen 32,6 Proz. auf 25,9 Proz. Da die Blutkörperchen

1) S. I. Mitteilung, Tab. II.

im Vergleich zum Plasma viel mehr Alkalien enthalten und zwar sowohl mineralische (über 2 mal soviel), wie organische (über 20 mal soviel!), so liegt in dem Ersatz von 6,7 ccm Blutkörperchen durch Plasma die Ursache, daß sogar eine beträchtliche Erhöhung der Plasmaalkalescenz keinen Einfluß auf die Gesamtalkalescenz des Blutes hatte.

Aus der ersten Untersuchungsreihe lassen sich folgende zwei Schlüsse ziehen: 1) Die in den Körper eingeführten Alkalien heben unter normalen Verhältnissen hauptsächlich die Alkalescenz des Plasmas, sowohl die mineralische, wie die organische. In Übereinstimmung mit den Untersuchungen von Raimondi dauert diese Steigerung wahrscheinlich nur eine ganz kurze Zeit und wird rasch durch Ausscheidung der überschüssigen Alkalien durch die Nieren ausgeglichen; 2) Trotz der Steigerung der Plasmaalkalescenz kann das Blut vollständig normal bleiben, wenn in den Blutkörperchen Veränderungen stattfinden, welche im entgegengesetzten Sinne wirken, wie z. B. in unserem Falle eine Verwässerung des Blutes und Verminderung der Zahl der Blutkörperchen.

Ehe ich zur Besprechung weiterer Versuche übergehe, möchte ich auf ein Symptom aufmerksam machen, welches zu unseren Untersuchungen eigentlich keine nähere Beziehung besitzt, welches aber nicht verschwiegen werden kann. Es ergibt sich, daß alle Kaninchen nach 4tägiger Sodadarreichung 110—200 g an Gewicht verloren haben, trotzdem sie normale Kost bekamen und auffraßen. Diesen Gewichtsverlust könnte man zweierlei deuten: entweder diente das eingeführte Salz als Diureticum und verursachte einen gewissen Wasserverlust, oder verloren die Kaninchen einen Anteil von ihrer Körpersubstanz. Die erste Möglichkeit wird dadurch widerlegt, daß das Blut dieser Kaninchen Verwässerungs- nicht aber Eindickungssymptome aufweist (s. Tab. I: der N-Gehalt des Blutes sank von 2,74 g auf 2,42; der Prozentgehalt an Blutkörperchen von 32,6 auf 25,9). Desto wahrscheinlicher wird also die zweite Möglichkeit, wofür auch die Experimente von A. Loewy[1]) sprechen. Dieser Verfasser beobachtete, daß bei kastrierten Hunden die CO_2-Ausscheidung unter dem Einfluß von Natriumkarbonat bedeutend stieg.

Betrachten wir jetzt die Tabellen II u. III, in denen die Ergebnisse der Untersuchungen bei hungernden Kaninchen zusammengestellt sind. Ich habe die Tiere 6—10 Tage hungern lassen, je nach deren Kräftezustande: im Mittel aber 8 Tage. Es wurden im ganzen 6 Versuche ausgeführt: in 3 Versuchen goß ich täglich in

1) A. Loewy, Verhandlungen der Berliner Physiol. Ges., 1902—1903, N.-N. 3—9, S. 45—46.

den Magen der Tiere je 100 ccm einer 0,5 proz. Kochsalzlösung hinein, in 3 anderen dieselbe Quantität einer 2 proz. Sodalösung.

Bei den Kaninchen, welche während der Hungerperiode mit Kochsalz behandelt wurden, traten die Symptome einer Acidose sehr deutlich hervor (s. Tab. II u. V). Die Verminderung der Blutalkaleszenz bezieht sich hauptsächlich auf den mineralischen Teil und betrifft ebenso das Plasma wie die Blutkörperchen. Das Blutplasma verlor dabei an Alkaleszenz 36,5 mg, d. h. 30 Proz. (die normale Mineralalkaleszenz des Plasmas beträgt 120,5, in diesem Falle betrug sie 84 mg Na OH); die Blutkörperchen haben 71,9 mg Na ON verloren, d. i. 25 Proz. (die normale Mineralalkaleszenz der Blutkörperchen beträgt 283,9, hier betrug sie 212 mg Na ON). In dem Verluste an Mineralalkaleszenz sind also die Blutkörperchen und das Plasma annähernd gleich beteiligt. Viel geringer ist der Verlust an organischer Alkaleszenz.

Im Plasma ist dieser Verlust ersichtlich abgesehen davon, ob wir die organische Alkaleszenz auf 100 ccm, oder auf 1 g N berechnen (die normale organische Plasmaalkaleszenz beträgt 24,8 mg Na ON, hier betrug sie 21 mg; 1 g Plasmastickstoff entspricht bei gesunden Kaninchen 28 mg Na ON, bei hungernden dagegen betrug er nur 22 mg). Was die Blutkörperchen betrifft, so hat ihre organische Alkaleszenz sogar anscheinend zugenommen; wenn wir aber dieselbe im Verhältnis zu N berechnen, so ergibt sich, daß bei normalen Kaninchen 1 g N einer Alkaleszenz von 87 mg Na OH entspricht, bei hungernden nur 74 mg. Auf Grund von Erwägungen, die in unserer ersten Mitteilung angegeben sind, können wir berechnen, daß bei Kaninchen mit einer 8 tägigen Hungerperiode mit Gewichtsverlust von 23—30 Proz. eine Säureproduktion verbunden ist, welche 0,65 g HCl pro Kilo Körpergewicht entspricht.[1])

Die Tabelle 3 enthält die Untersuchungsresultate, welche an hungernden Kaninchen, denen ich täglich 100 ccm einer 2 proz. Sodalösung in den Magen einführte, gewonnen wurden. Es genügt sogar ein oberflächlicher Blick auf diese Ergebnisse, um beurteilen zu

1) Die mineralische Plasmaalkaleszenz beträgt bei normalen Kaninchen 120,5 mg Na OH, bei hungernden dagegen 84 mg; danach beträgt der Verlust an mineralischer Alkaleszenz in 100 ccm Plasma 36,5 mg Na OH; das Tier hat also pro Kilo Körpergewicht $\frac{36{,}5 \,.\, 10}{1{,}025} = 360$ mg Na OH an mineralischen Alkalien verloren. Wenn wir annehmen, daß die mineralischen Alkalien nur die Hälfte von den entstandenen sauren Produkten neutralisieren, dann ergibt sich, daß der Gesamtverlust an Alkaleszenz pro Kilo Körpergewicht 720 mg beträgt, was $\frac{720 \,.\, 36{,}5}{40} = 0{,}65$ g HCl entspricht.

können, was für Veränderungen die Sodaeingießungen im Blute hervorgerufen haben. Mit Ausnahme von mineralischer Alkaleszenz der Blutkörperchen sind alle anderen Zahlen normal oder sogar etwas höher (s. Tab. V). Wenn auch die Mineralalkaleszenz der Blutkörperchen nicht bis zur Norm gekommen ist, so ist jedenfalls der Unterschied nicht bedeutend; übrigens wie ich schon in meiner ersten Mitteilung betonte, sind die Zahlen für die Alkaleszenz der Blutkörperchen nur mit gewisser Einschränkung zu nehmen, da sie nicht unmittelbar, sondern durch Berechnung aus der Zusammenstellung von 4 oder gar mehr Einzelanalysen gewonnen werden. Als Indikator der Alkaleszenzveränderungen müssen wir das Plasma betrachten und danach ergibt sich, daß 2 g Natriumkarbonat pro die die Symptome der Acidose bei hungernden Kaninchen vollständig aufgehoben haben. Jetzt nähert sich die Frage, in welcher Beziehung die eingeführte Alkalimenge zu der Säureproduktion beim Hungern sich befindet. Wie schon oben erwähnt, läßt sich der Grad der Acidose auf ungefähr 0,65 g HCl pro Kilo Körpergewicht annehmen. Wenn wir als Mittelgewicht eines Kaninchens die Mittelzahl zwischen dem ursprünglichen und dem Endgewicht nach der Hungerperiode annehmen, so ergibt sich, daß wir auf 7 Kilo Kaninchengewicht 50 g Na_2CO_3 eingeführt haben (s. Tab. III), oder pro Kilo 50/7 g Na_2CO_3, welche 1,8 g HCl binden können [1]).

Wie ersichtlich, führten wir den Kaninchen Alkalien ein in einer Qantität, die fast dreimal so groß war wie die Säureproduktion, in diesem Falle blieb die Blutakalkaleszenz normal. Ich will nicht behaupten, daß so ein Verhältnis unbedingt notwendig wäre, doch muß man vermuten, daß die eingeführte Alkalimenge größer sein muß, als diejenige, die in vitro eine entsprechende Säuremenge bindet. Diese Vermutung findet eine gewisse Stütze in der nächsten Untersuchungsreihe, an mit Phosphor vergifteten Kaninchen; hier möchte ich nur bemerken, daß die Ursache dieser Erscheinung in der Entstehungsart der Säuren und in der Zuführungsart der Alkalien liegt. Die Säuren entstehen beim Hungern, „endogen" in der Zelle und gehen dann in die Lymphe und das Blut über, die Alkalien kommen dagegen auf dem Blut- und Lymphwege bis zur Zelle. Deswegen kann es vorkommen, daß die Alkalien, nachdem sie in größerer Menge ins Blut gelangen, die verminderte Blut-

1) Das Molekulargewicht von Na_2CO_3 (mit 10 Mol. krist. Wasser) = 286. Ein Molekül von Na_2CO_3 entspricht 2 Molekülen von HCl (Molekulargewicht 36,5); $\frac{50}{7}$ g Na_2CO_3 entspricht also $\frac{50 . 73}{7,286}$ = 1,8 g HCl.

alkalescenz ausgleichen, der Überschuß aber durch die Nieren eher ausgeschieden werden kann, als er die noch in der Zelle enthaltenen sauren Produkte erreicht.

Die Resultate der letzten Untersuchungsreihe sind in der Tab. IV zusammengestellt. Die Kaninchen erhielten hier im Laufe von vier Tagen je 4 g Na_2CO_3 ebenso wie in der ersten Untersuchungsreihe; am dritten Tage injizierte ich dem Tiere Phosphoröl und zwar 0,015 P., am vierten Tage Morgens um 8 Uhr wiederholte ich die Injektion, diesmal mit 0,02 P. und um 12½—1 Uhr erfolgte die Blutentnahme. Alle vergifteten Kaninchen befanden sich in einem sehr schweren Zustande mit ausgesprochener Dyspnoe und Pulsbeschleunigung.

Wenn wir die Mittelzahlen von den mit Phosphor vergifteten und mit Soda behandelten Kaninchen mit denjenigen, die neben Phosphor kein Alkali bekamen, vergleichen (vgl. Tab. IV und V), so ergibt sich, daß diesmal das Na_2CO_3 nur unbedeutende Alkalescenzveränderungen hervorgerufen hat. Die Alkalescenz des Gesamtblutes blieb fast unverändert; der Unterschied betrifft nur das Plasma und die Blutkörperchen. Die Veränderungen der Plasmaalkalescenz hängen lediglich von der Steigerung der organischen Alkalescenz ab (bei den P-Kaninchen betrug die organische Plasmaalkalescenz 11,6 mg NaOH, die P + Na_2CO_3-Kaninchen 27,7 mg); die mineralische Plasmaalkaleszenz blieb dagegen genau dieselbe (88,7 mg und 89,2 mg NaOH). Die Veränderungen in den Blutkörperchen sind überhaupt unbedeutend: eine geringe Steigerung der Mineralalkaleszenz (um 26,5 mg NaOH) und sogar eine Verminderung der organischen Alkaleszenz (um 69 mg NaOH). Im allgemeinen blieb also das Natriumkarbonat bei den mit Phosphor vergifteten Tieren fast ohne Einfluß auf die Blutalkaleszenz. Wenn wir sogar nur diejenige Alkalimenge berücksichtigen, welche die Tiere erst nach der Phosphorinjektion erhielten (8 g Na_2CO_3 im Laufe von 2 Tagen), so beträgt noch dieselbe $\frac{16}{5}$ g Na_2CO_3 pro Kilo Körpergewicht, was 0,82 g HCl. enrspricht. In unserer ersten Mitteilung haben wir gezeigt, daß die Phosphorvergiftung der Kaninchen von einer Säureproduktion, die 0,55 g HCl. pro Kilo Gewicht entspricht, begleitet wird. Obwohl also die Kaninchen eine $1\frac{1}{2}$ Mal größere Alkalimenge erhielten, als die Säureproduktion bei Phosphorvergiftung beträgt, doch hat sich die Acidose, wenn wir sie nach der Blutalkaleszenz beurteilen, fast gar nicht vermindert. Dieses Ergebnis ist desto auffallender, da die Harnuntersuchung bei allen

diesen Tieren eine alkalische Reaktion ergab. Wir stehen also vor zwei anscheinend sich widersprechenden Tatsachen: einer verminderten Blutalkaleszenz und einem Überschuß an Alkali im Harne. Wäre der Harn bei derselben Verminderung der Blutalkaleszenz sauer geblieben, so wäre die ganze Frage klar; wir müßten dann annehmen, daß wir zu wenig Alkali eingeführt haben, welches also der viel größeren Säureproduktion nicht entgegenwirken konnte. Die alkalische Reaktion des Harnes macht aber die Frage viel schwieriger; vorläufig können wir uns dieselbe nur durch die oben erwähnte Hypothese über die Entstehung der Säuren und den Zufluß der Alkalien erklären. Der Überschuß an eingeführtem Alkali wird aus dem Blute ausgeschieden, bevor er die in den Zellen enthaltenen Säuren neutralisieren kann. Dieser Überschuß verursacht die alkalische Reaktion des Harnes, während die sauren Produkte welche später aus den Zellen ausgelaugt werden, die Blutalkaleszenz vermindern, nachdem dieselbe nur eine ganz kurze Zeit die normale Höhe erreichen konnte.

Jetzt entsteht noch die Frage, warum wirkt das Natriumkarbonat so verschieden bei Säureintoxikation durch Hungern und bei der durch Phosphorvergiftung. Beim ersten erreichten alle Arten von Blutalkaleszenz ihre normale Höhe, bei der zweiten sehen wir keine Tendenz zur Steigerung. Ich glaube nicht, daß dieser Unterschied von den verschiedenen Alkalimengen abhänging wäre. Obwohl die hungernden Kaninchen eine Alkalimenge erhielten, die dreimal so groß, die mit P vergifteten dagegen eine nur $1^1/_2$ Mal so groß, wie die Säureproduktion verlangen konnte, glaube ich doch den Unterschied in dem Verhalten des Blutes hauptsächlich auf den Charakter der Vergiftung zurückführen zu dürfen. Beim Hungern ist die Säureproduktion eine beschränkte und hängt quantitativ von dem Calorienbedürfnis resp. von dem Eiweiß- und Fettzerfall ab. Nachdem die Ausgaben gedeckt sind, wird der Körper keine weiteren Eiweiß- resp. Fettmengen zerstören. Daraus folgt, daß, nachdem die sauren Produkte einmal neutralisiert sind, keine neuen mehr gebildet werden. Bei der P-Vergiftung dagegen haben wir mit einem toxischen Eiweiß- und Fettzerfall zu tun. Nach der Einführung von Alkali werden die im Blute vorhandenen sauren Produkte vorderhand neutralisiert, die Säureproduktion hört aber nicht auf, weswegen eine neue Verminderung der Blutalkaleszenz stattfindet.

Die Ergebnisse der oben angeführten Untersuchungen erklären uns, warum unsere Bemühungen, das Coma diabeticum mit Alkalien zu beseitigen, fast immer versagen. Wir können eine Hilfe nur

dann leisten, wenn die Säureproduktion eine beschränkte ist; deswegen können wir eine nicht toxische Acidose bekämpfen, wie sie beim Hungern und bei jedem Diabetes vorkommt. Wenn aber die Säureproduktion auf toxischen Einflüssen beruht, wie das unzweifelhaft beim Coma diabeticum der Fall ist, dann bleibt sogar eine viel größere Alkalimenge, als der Säureproduktion entspricht, auf die Acidose ohne Einwirkung.

Die von uns in beiden Mitteilungen angewandte Methode zur Alkaleszenzbestimmung des Blutes beruht auf Titration unter Benutzung eines Indikators (Lacmoid). Im Jahre 1902 hat Höber[1]) eine Methode angegeben, welche auf physikalisch-chemischen Gründen beruht und uns vollkommen unabhängig von der Empfindlichkeit irgend welches Indikators macht. Nach der Methode von Höber werden nicht die Basenmengen bestimmt, die wir durch Säurezutaten neutralisieren, sondern die Menge der im Blute vorhandenen freien OH-Jonen. Die Jonen-Alkaleszenz des Blutes hängt von der Dissoziation des im Blute gelösten Natriumkarbonats und Natriumphosphats (zweibasisch), hauptsächlich aber des ersteren, ab. So zerfällt z. B. das Natriumkarbonat in wässeriger Lösung in die Jonen Na, Na und CO_3; CO_3 bindet sich mit den H-Jonen des Wassers, wodurch freie OH-Jonen entstehen, welche die Jonenalkaleszenz der Lösung verursachen. Höber hat einen Apparat konstruiert, welcher auf der Nernstschen Theorie der Flüssigkeitsketten beruht, und welcher die Alkaleszenz auf elektromotorischem Wege bestimmt und dieselbe in g OH berechnen läßt. Höber fand mittels seines Apparates, daß die Jonenalkaleszenz des Blutes sehr gering ist und pro Liter $0{,}22.10^{-5}$ — $0{,}9.10^{-5}$ g OH beträgt; danach ist die Konzentration der OH-Jonen im Blute nur 30—100 Mal größer, als im destillierten Wasser ($c\,OH = 0{,}8.10^{-7}$ g). Spätere Untersuchungen, die mit noch feineren Apparaten ausgeführt worden sind, haben ergeben, daß das Blut und das Serum sich in dieser Beziehung vom Wasser fast gar nicht unterscheiden. So fand z. B. Fraenkel[2]), daß c OH im Ochsen-, Schweine- und Pferdeblute genau so groß ist, wie im destillierten Wasser; nach Farkas[3]) beträgt die Jonenalkaleszenz des Serums $c\,OH = 1$—3.10^{-7} g OH, d. h. also, daß das Serum fast neutral ist, da seine Alkaleszenz einer $^1/_{10{,}000{,}000}$ normalen Natronlaugelösung entspricht.

Wir sehen also, wie verschiedenartige Resultate die beiden Methoden ergeben. Die Titration zeigt, daß die Mineralalkaleszenz

1) Höber, Physikal. Chem. d. Zelle u. d. Gewebe. Leipzig 1902, S. 235—241.
2) P. Fraenkel, Pflügers Arch., Bd. 96, 1903. 3) Farkas, Pflügers Arch. 1903.

des Blutes bedeutend ist und etwa 180 mg NaOH pro 100 ccm beträgt, die Jonenmethode dagegen, daß das Blut fast neutral ist. Diesen Widerspruch können wir leicht begreifen, wenn wir uns den Grund jeder Methode und das Wesen beider Arten von Alkaleszenz klar machen. Die physikalisch-chemische Methode bestimmt nur die sog. aktuelle Alkaleszenz oder die Zahl der freien OH-Jonen, welche durch Jonisation des Na_2CO_3 und des Na_2HPO_4 entstanden sind. Wir wissen aber, daß diese Salze, als schwache Basen, nur in geringem Grade jonisieren, so daß im Blute nur derer kleiner Teil zerfällt, die Hauptmenge bleibt aber unverändert, im potentiellen Zustande. Im Gegenteil, die Titrationsmethode umfaßt sowohl die aktuelle wie die potentielle Alkalinität; sie bestimmt ebenso die freien Hydroxylionen wie die latenten. Die letzteren werden erst dann frei, wenn das Blut einen Teil seiner freien OH-Jonen durch Zufluß von Säuren verliert. Infolge von zerstörtem Jonengleichgewicht zerfällt dann eine gewisse Menge von Na_2CO_3 in ihre Jonen, so daß die Quantität der freien OH-Jonen unverändert bleibt.

Obwohl vom physikalisch-chemischen Standpunkte aus das Blut eine fast oder vollständig neutrale Flüssigkeit darstellt, müssen wir doch vom Standpunkt der Physiologie und der Pathologie bei dem alten Begriffe bleiben, wonach das Blut ein alkalisches Medium bildet. Denn auf dieser Eigenschaft des Blutes beruhen zwei seiner sehr wichtigen Funktionen: das Übertragen von CO_2 und die Neutralisation der sauren Produkte, welche ins Blut gelangen. Anderseits darf man auch die „aktuelle“ Blutalkaleszenz nicht vernachlässigen. Spätere Untersuchungen werden entscheiden, ob und in welchem Grade ein Zusammenhang zwischen den beiden Alkaleszenzarten besteht.

Nach den Untersuchungen von Höber und Jankowski[1]) über die Acidität des Harns müßte man annehmen, daß dieser Zusammenhang nicht besteht. Diese Untersuchungen zeigen, daß die Titrations- und die Jonenacidität des Harns zwei verschiedene und von einander unabhängige Größen sind; die eine kann die andere nicht ersetzen, höchstens können sie sich gegenseitig ergänzen.

Zu den Ausführungen des Herrn Verfassers über die unvollständige Wirkung der Alkalien auf die Blutalkaleszenz beim Coma diabeticum muß ich bemerken, daß sich diese bereits ganz ähnlich in meiner Monographie „Der Diabetes melitus“ finden. Naunyn.

1) Höber, Die Acidität des Harns vom Standpunkt der Ionenlehre. Hofmeisters Beiträge 1903, Bd. 3 u. 12.

Nr. des Versuchs	Datum	D. ursprüngl. Gewicht d. Kaninchens in g	D. Gewicht d. Kaninch. vor der Blutentnahme	D. Gesamtalkaleszenz des Blutes (mg NaOH in 100 ccm)	D. mineralische Alkaleszenz d. Blutes (mg NaOH in 100 ccm)	Die organische Alkaleszenz d. Blutes (mg NaOH in 100 ccm)	D. Gesamtalkaleszenz des Plasmas (mg NaOH in 100 ccm)	D. mineralische Alkalesz. d. Plasmas (mg NaOH in 100 ccm)	Die organische Alkalesz. d. Plasmas (mg NaOH in 100 ccm)	D. Gesamtalkalesz. d. Blutkörperchen (mg NaOH in 100 ccm)	Die mineral. Alkalesz. d. Blutkörp. (mg NaOH in 100 ccm)	Die organ. Alkalesz. d. Blutkörp. (mg NaOH in 100 ccm)	N-Gehalt des Blutes (g N in 100 ccm)	N-Gehalt des Plasmas (g N in 100 ccm)	N-Gehalt der Blutkörperchen (g N in 100 ccm)	N-Gehalt des verdünnten Plasmas (g N in 100 ccm)	1 g N d. Plasmas entspricht — mg NaOH	1 g N d. Blutkörperch. entspr. — mg NaOH	Das Verhältnis des Plasmas zu Blutkörperchen in Proz.	Bemerkungen
1	19.XII.05.	3230	3100	356	168	188	180	144	36	1034	262	772	2,419	0,873	8,379	0,386	—	—	79,4 : 20,6	Alle Kaninch. erhielten im Laufe v Tagen tägl. je 100 ccm 2 proz. Sodalösung unter die Haut und ebensoviel in den Magen hinein
2	22.XII.05.	2500	2300	372	187	185	204	152	52	789	275	514	2,609	0,968	6,686	0,403	—	—	71,3 : 28,7	
3	29.XII.05.	2315	2170	370	186	184	176	148,5	27,5	813	265	548	2,469	0,868	5,812	0,35	—	—	67,6 : 32,4	
4	5. II. 06.	3080	2950	340	162	178	176	146	30	811	209	602	2,206	0,873	6,019	?	—	—	(74,1 : 25,9)	
5	16. II. 06.	2260	2150	372	198	174	184	152	32	1038	361	677	2,413	0,871	7,921	0,386	-	—	78,1 : 21,9	
Durchschnittlich				362	180,2	181,8	184	148,5	35,5	896	274	623	2,423	0,891	6,963	—	40	89	74,1 : 25,9	
Durchschnittliche Alkaleszenzwerte b. normalen Kaninch., d. m. Soda nicht bestellt werd. (Siehe I. Mitteilg. Dieses Arch. Bd. 52.)				372,5	171,8	200,7	145,3	120,5	24,8	852	283,9	568,1	2,74	0,87	6,49	—	28	87	67,4 : 32,6	

Tabelle II. Blut von hungernden, mit NaCl behandelten Kaninchen.

Nr. des Versuchs	Datum	D. ursprüngl. Gewicht des Kaninchens in g	D. Gewicht d. Kaninch. vor der Blutentnahme	D. Gesamtalkaleszenz des Blutes (mg NaOH in 100 ccm)	D. mineralische Alkaleszenz d. Blutes (mg NaOH in 100 ccm)	Die organische Alkaleszenz d. Blutes (mg NaOH in 100 ccm)	D. Gesamtalkaleszenz des Plasmas (mg NaOH in 100 ccm)	D. mineralische Alkalesz. d. Plasmas (mg NaOH in 100 ccm)	Die organische Alkalesz. d. Plasmas (mg NaOH in 100 ccm)	D. Gesamtalkalesz. d. Blutkörperchen (mg NaOH in 100 ccm)	Die mineral. Alkalesz. d. Blutkörp. (mg NaOH in 100 ccm)	Die organ. Alkalesz. d. Blutkörp. (mg NaOH in 100 ccm)	N-Gehalt des Blutes (g N in 100 ccm)	N-Gehalt des Plasmas (g N in 100 ccm)	N-Gehalt der Blutkörperchen (g N in 100 ccm)	N-Gehalt des verdünnten Plasmas (g N in 100 ccm)	1 g N d. Plasmas entspricht — mg NaOH	1 g N d. Blutkörperch. entspr. — mg NaOH	Das Verhältnis des Plasmas zu Blutkörperchen in Proz.	Bemerkungen
6	26. II. 06.	2700	1850	288	105,6	182,4	96	80	16	1112	215	896	2,556	0,978	10,91	0,138	—	—	81,1 : 18,9	hungerte 8 Tage. Gewichtsverlust 32 Proz.
7	6. III. 06.	2880	1990	210	98	112	98	76	22	658	186	465	1,971	0,856	6,429	0,38	—	—	80 : 20	hungerte 8 Tage. Gewichtsverlust 31 Proz.
8	29. III. 06.	2720	2090	250	124	156	120	96	24	920	236	684	2,592	0,957	9,922	0,425	—	—	80 : 20	hungerte 8 Tage. Gewichtsverlust 23 Proz.
Durchschnittlich				259	109,2	150	105	84	21	890	212	678	2,473	0,93	9,087	—	22,5	74	80,4 : 19,6	

Tabelle III. Blut von hungernden, mit Na_2CO_3 behandelten Kaninchen.

Nr. des Versuchs	Datum	D. ursprüngl. Gewicht des Kaninchens in g	D. Gewicht d. Kaninch. vor der Blutentnahme	D. Gesamtalkaleszenz des Blutes (mg NaOH in 100 ccm)	D. mineralische Alkaleszenz d. Blutes (mg NaOH in 100 ccm)	Die organische Alkaleszenz d. Blutes (mg NaOH in 100 ccm)	D. Gesamtalkaleszenz des Plasmas (mg NaOH in 100 ccm)	D. mineralische Alkalesz. d. Plasmas (mg NaOH in 100 ccm)	Die organische Alkalesz. d. Plasmas (mg NaOH in 100 ccm)	D. Gesamtalkalesz. d. Blutkörperchen (mg NaOH in 100 ccm)	Die mineral. Alkalesz. d. Blutkörp. (mg NaOH in 100 ccm)	Die organ. Alkalesz. d. Blutkörp. (mg NaOH in 100 ccm)	N-Gehalt des Blutes (g N in 100 ccm)	N-Gehalt des Plasmas (g N in 100 ccm)	N-Gehalt der Blutkörperchen (g N in 100 ccm)	N-Gehalt des verdünnten Plasmas (g N in 100 ccm)	1 g N d. Plasmas entspricht — mg NaOH	1 g N d. Blutkörperch. entspr. — mg NaOH	Das Verhältnis des Plasmas zu Blutkörperchen in Proz.	Bemerkungen
9	13. III. 06	2760	2070	360	146	214	164	124	40	828	199	629	2,64	1,019	6,515	0,421	—	—	70,5 : 29,5	hungerte 9 Tage. Gewichtsverlust 25 Proz.
10	20. III. 06.	2550	1800	370	180	190	172	134	38	1060	340	720	2,839	0,98	9,319	0,428	—	—	77,7 : 22,3	hungerte 6 Tage. Gewichtsverlust 30 Proz.
11	22. III. 06	2720	2100	384	150	234	172	132	40	908	194	714	2,736	0,882	7,319	0,366	—	—	71,2 : 28,8	hungerte 10 Tage. Gewichtsverlust 23 Proz
Durchschnittlich				371	159	212	169	130	39	932	224	688	2,738	0,960	7,384	—	41	93	73,1 : 26,9	

Tabelle IV. Blut von Kaninchen, die mit P vergiftet und mit Soda behandelt wurden.

Nr. des Versuchs	Datum	D. ursprüngl. Gewicht des Kaninchens in g	D. Gewicht d. Kaninch. vor der Blutentnahme	D. Gesamtalkaleszenz des Blutes (mg NaOH in 100 ccm)	D. mineralische Alkaleszenz d. Blutes (mg NaOH in 100 ccm)	Die organische Alkaleszenz d. Blutes (mg NaOH in 100 ccm)	D. Gesamtalkaleszenz des Plasmas (mg NaOH in 100 ccm)	D. mineralische Alkalesz. d. Plasmas (mg NaOH in 100 ccm)	Die organische Alkalesz. d. Plasmas (mg NaOH in 100 ccm)	D. Gesamtalkalesz d. Blutkörperchen (mg NaOH in 100 ccm)	Die mineral. Alkalesz. d. Blutkörp. (mg NaOH in 100 ccm)	Die organ. Alkalesz. d. Blutkörp. (mg NaOH in 100 ccm)	N-Gehalt des Blutes (g N in 100 ccm)	N-Gehalt des Plasmas (g N in 100 ccm)	N-Gehalt der Blutkörperchen (g N in 100 ccm)	N-Gehalt des verdünnten Plasmas (g N in 100 ccm)	1 g N d. Plasmas entspricht — mg NaOH	1 g N d. Blutkörperch. entspr. — mg NaOH	Das Verhältnis des Plasmas zu Blutkörperchen in Proz.	Bemerkungen
12	13. I. 06.	2650	2425	244	126	118	106	68,5	37,5	592	271	321	2,503	1,013	6,257	0,422	—	—	71,6 : 28,4	D. Kaninch. wurd. m. Soda, wie auf d. Tab. I, behandelt. Am 3. Tag 0,015 P (ol. phosphor.) unt. d. Haut, am Tage d. Verbluten 0,02 g P.
13	17. I. 06.	2545	2230	236	142	94	112	89,7	22,3	589	291	298	2,34	0,823	6,662	0,35	—	—	74,0 : 26,0	
14	20. I. 06.	2700	2440	258	136	122	128	97,4	30,6	575	231	344	2,57	0,896	6,689	0,372	—	—	71,1 : 28,9	
15	21. I. 06.	2750	2440	272	135,6	136,4	112	88	24	703	263	140	2,598	0,784	7,443	?	—	—	(72,9 : 27,1)	
16	12. II. 06.	2480	2130	256	132	124	124	100	24	652	228	424	2,34	0,94	6,541	0,403	—	—	75,0 : 25,0	
Durchschnittlich				253,2	134,3	118,9	116,4	88,7	27,7	622	257	365	2,47	0,891	6,718	—	31	54	72,9 : 27,1	
Durchschnittliche Alkaleszenzwerte bei Kaninchen, die nur mit P ve…																				

Tabelle I. Blut von gesunden, mit Na_2CO_3 behandelten Kaninchen.

Nr. des Versuchs	Datum	D. ursprüngl. Gewicht d. Kaninchens in g	D. Gewicht d. Kaninch. vor der Blutentnahme	D. Gesamtalkaleszenz des Blutes (mg NaOH in 100 ccm)	D. mineralische Alkaleszenz d. Blutes (mg NaOH in 100 ccm)	Die organische Alkaleszenz d. Blutes (mg NaOH in 100 ccm)	D. Gesamtalkaleszenz des Plasmas (mg NaOH in 100 ccm)	D. mineralische Alkalesz. d. Plasmas (mg NaOH in 100 ccm)	Die organische Alkalesz. d. Plasmas (mg NaOH in 100 ccm)	D. Gesamtalkalesz. d. Blutkörperchen (mg NaOH in 100 ccm)	Die mineral. Alkalesz. d. Blutkörp. (mg NaOH in 100 ccm)	Die organ. Alkalesz. d. Blutkörp. (mg NaOH in 100 ccm)	N-Gehalt des Blutes (g N in 100 ccm)	N-Gehalt des Plasmas (g N in 100 ccm)	N-Gehalt der Blutkörperchen (g N in 100 ccm)	N-Gehalt des verdünnten Plasmas (g N in 100 ccm)	1 g N d. Plasmas entspricht — mg NaOH	1 g N d. Blutkörperch. entspr. — mg NaOH	Das Verhältnis des Plasmas zu Blutkörperchen in Proz.	Bemerkungen
1	19.XII.05.	3230	3100	356	168	188	180	144	36	1034	262	772	2,419	0,873	8,379	0,386	—	—	79,4 : 20,6	Alle Kaninch. erhielten im Laufe v. 4 Tagen tägl. je 100 ccm 2 proz. Sodalösung unter die Haut und ebensoviel in den Magen hinein
2	22.XII.05.	2500	2300	372	187	185	204	152	52	789	275	514	2,609	0,968	6,686	0,403	—	—	71,3 : 28,7	
3	29.XII.05.	2315	2170	370	186	184	176	148,5	27,5	813	265	548	2,469	0,868	5,812	0,35	—	—	67,6 : 32,4	
4	5. II. 06.	3080	2950	340	162	178	176	146	30	811	209	602	2,206	0,873	6,019	?	—	—	(74,1 : 25,9)	
5	16. II. 06.	2260	2150	372	198	174	184	152	32	1038	361	677	2,413	0,871	7,921	0,386	—	—	78,1 : 21,9	
Durchschnittlich				362	180,2	181,8	184	148,5	35,5	896	274	623	2,423	0,891	6,963	—	40	89	74,1 : 25,9	
Durchschnittliche Alkaleszenzwerte b. normalen Kaninch., d. m. Soda nicht bestellt werd. (Siehe I. Mitteilg. Dieses Arch. Bd. 52.)				372,5	171,8	200,7	145,3	120,5	24,8	852	283,9	568,1	2,74	0,87	6,49	—	28	87	67,4 : 32,6	

Tabelle II. Blut von hungernden, mit NaCl behandelten Kaninchen.

Nr. des Versuchs	Datum	D. ursprüngl. Gewicht des Kaninchens in g	D. Gewicht d. Kaninch. vor der Blutentnahme	D. Gesamtalkaleszenz des Blutes (mg NaOH in 100 ccm)	D. mineralische Alkaleszenz d. Blutes (mg NaOH in 100 ccm)	Die organische Alkaleszenz d. Blutes (mg NaOH in 100 ccm)	D. Gesamtalkaleszenz des Plasmas (mg NaOH in 100 ccm)	D. mineralische Alkalesz. d. Plasmas (mg NaOH in 100 ccm)	Die organische Alkalesz. d. Plasmas (mg NaOH in 100 ccm)	D. Gesamtalkalesz. d. Blutkörperchen (mg NaOH in 100 ccm)	Die mineral. Alkalesz. d. Blutkörp. (mg NaOH in 100 ccm)	Die organ. Alkalesz. d. Blutkörp. (mg NaOH in 100 ccm)	N-Gehalt des Blutes (g N in 100 ccm)	N-Gehalt des Plasmas (g N in 100 ccm)	N-Gehalt der Blutkörperchen (g N in 100 ccm)	N-Gehalt des verdünnten Plasmas (g N in 100 ccm)	1 g N d. Plasmas entspricht — mg NaOH	1 g N d. Blutkörperch. entspr. — mg NaOH	Das Verhältnis des Plasmas zu Blutkörperchen in Proz.	Bemerkungen
6	26. II. 06.	2700	1850	288	105,6	182,4	96	80	16	1112	215	896	2,856	0,978	10,91	0,438	—	—	81,1 : 18,9	hungerte 8 Tage. Gewichtsverlust 32 Proz.
7	6. III. 06.	2880	1990	210	98	112	98	76	22	658	186	468	1,971	0,856	6,429	0,38	—	—	80 : 20	hungerte 8 Tage. Gewichtsverlust 31 Proz.
8	29. III. 06.	2720	2090	280	124	156	120	96	24	920	236	684	2,592	0,957	9,922	0,425	—	—	80 : 20	hungerte 8 Tage. Gewichtsverlust 23 Proz.
Durchschnittlich				259	109,2	150	105	84	21	890	212	678	2,473	0,93	9,087	—	22,5	74	80,4 : 19,6	

Tabelle III. Blut von hungernden, mit Na_2CO_3 behandelten Kaninchen.

Nr. des Versuchs	Datum	D. ursprüngl. Gewicht des Kaninchens in g	D. Gewicht d. Kaninch. vor der Blutentnahme	D. Gesamtalkalescenz des Blutes	D. mineralische Alkalescenz d. Blutes	Die organisch Alkalescenz d. Blutes	D. Gesamtalkalescenz des Plasmas	D. mineralische Al kalesz. d. Plasmas	Di organisch Al kalesz d. Plasmas	D. Gesamtalkalesz. d. Blutkörperchen	Die mineral Alkalesz. d. Blutkörp.	Die organ. Alkalesz. d. Blutkörp.	N-Gehalt des Blutes	N-Gehalt des Plasmas	N-Gehalt der Blutkörperchen	N-Gehalt des verdünnten Plasmas	1 g N d. Plasmas entspricht — mg NaOH	1 g N d. Blutkörperch. entspr. — mg NaOH	Das Verhältnis des Plasmas zu Blutkörperchen in Proz.	Bemerkungen
				mg NaOH in 100 ccm									g N in 100 ccm							
9	13. III. 06	2760	2070	360	146	214	164	124	40	828	199	629	2,64	1,019	6,515	0,421	—	—	70,5 : 29,5	hungerte 9 Tage. Gewichtsverlust 25 Proz.
10	20. III. 06.	2550	1800	370	180	190	172	134	38	1060	340	720	2,839	0,98	9,319	0,428	—	—	77,7 : 22,3	hungerte 6 Tage. Gewichtsverlust 30 Proz.
11	22. III. 06	2720	2100	384	150	234	172	132	40	908	194	714	2,736	0,882	7,319	0,366	—	—	71,2 : 28,8	hungerte 10 Tage. Gewichtsverlust 23 Proz
Durchschnittlich				371	159	212	169	130	39	932	224	688	2,738	0,960	7,384	—	41	93	73,1 : 26,9	

Tabelle IV. Blut von Kaninchen, die mit P vergiftet und mit Soda behandelt wurden.

Nr. des Versuchs	Datum	D. ursprüngl. Gewicht des Kaninchens in g	D. Gewicht d. Kaninch. vor der Blutentnahme	D. Gesamtalkalescenz des Blutes	D. mineralische Alkalescenz d. Blutes	Die organische Alkalescenz d. Blutes	D. Gesamtalkalescenz des Plasmas	D. mineralische Alkalesz. d. Plasmas	Die organische Alkalesz. d. Plasmas	D. Gesamtalkalesz d. Blutkörperchen	Die mineral. Alkalesz d. Blutkörp.	Die organ. Alkalesz. d. Blutkörp.	N-Gehalt des Blutes	N-Gehalt des Plasmas	N-Gehalt der Blutkörperchen	N-Gehalt des verdünnten Plasmas	1 g N d. Plasmas entspricht — mg NaOH	1 g N d. Blutkörperch. entspr. — mg NaOH	Das Verhältnis des Plasmas zu Blutkörperchen in Proz.	Bemerkungen
				mg NaOH in 100 ccm									g N in 100 ccm							
12	13. I. 06.	2650	2425	244	126	118	106	68,5	37,5	592	271	321	2,503	1,013	6,257	0,422	—	—	71,6 : 28,4	D. Kaninch. wurd. m. Soda, wie auf d. Tab. I, behandelt. Am 3. Tag 0,015 P (ol. phosphor.) unt. d. Haut, am Tage d. Verbluten 0,02 g P.
13	17. I. 06.	2545	2230	236	142	94	112	89,7	22,3	589	291	298	2,34	0,823	6,662	0,35	—	—	74,0 : 26,0	
14	20. I. 06.	2700	2440	258	136	122	128	97,4	30,6	575	231	344	2,57	0,896	6,689	0,372	—	—	71,1 : 28,9	
15	24. I. 06.	2750	2140	272	135,6	136,4	112	88	24	703	263	440	2,598	0,784	7,443	?	—	—	(72,9:27,1)	
16	12. II. 06.	2480	2130	256	132	124	124	100	24	652	228	424	2,34	0,94	6,541	0,403	—	—	75,0 : 25,0	
Durchschnittlich				253,2	134,3	118,9	116,4	88,7	27,7	622	257	365	2,47	0,891	6,718	—	31	54	72,9 : 27,1	
Durchschnittliche Alkaleszenzwerte bei Kanin-																				

Tabelle V.
Durchschnittswerte von Blutalkaleszenz.

Versuchsreihe	D. Gesamtalkaleszenz des Blutes	D. mineralische Alkaleszenz d. Blutes	Die organische Alkaleszenz d. Blutes	D. Gesamtalkaleszenz des Plasmas	D. mineralische Alkalesz. d. Plasmas	Die organische Alkalesz. d. Plasmas	D. Gesamtalkalesz. d. Blutkörperchen	Die mineral. Alkalesz. der Blutkörp.	Die organ. Alkalesz. d. Blutkörp.	1 g N d. Plasmas entspricht — mg NaOH	1 g N d. Blutkörperch. entspr. — mg NaOH
	mg NaOH in 100 ccm										
Normale Kaninchen	372,5	171,8	200,7	145,3	120,5	24,8	852	283,9	568,1	28	87
Gesunde Kan. + Na_2CO_3	362	180,2	181,8	184	148,5	35,5	896	274	623	40	89
Hung. Kaninch. + NaCl	259	109,2	150	105	84	21	890	212	678	22,5	74
Hung. Kan. + Na_2CO_3	371	159	212	169	130	39	932	244	688	41	93
Kaninchen P	258	129	128,2	110,8	89,2	11,6	654,7	230,5	424,2	11	60
Kaninchen P + Na_2CO_3	253,2	134,3	118,9	116,4	88,7	27,7	622	257	365	31	54

XI.

Aus der medizinischen Universitäts-Poliklinik zu Freiburg i. Br.
(Direktor: Prof. C. Hirsch).

Über Wanderung des Adrenalins im Nerven.

Von

Dr. L. Lichtwitz,
I. Assistenten der Poliklinik.

(Mit 1 Abbildung.)

Beobachtungen am Krankenbett hatten mich schon vor längerer Zeit zu der Vermutung geführt, daß die aktive Substanz der Nebennieren von den sympathischen Nerven aufgenommen und fortgeleitet wird. Diese Auffassung entstand unter dem Einfluß der wichtigen Entdeckung von Hans Meyer und Ransom[1]), daß Tetanus- und Diphterietoxin im Nerven wandert, durch die Erwägung, daß dort, wo diese körperfremden Substanzen passieren, ein normaler Weg sein müsse. Gestützt wird diese Ansicht durch den anatomischen Bau der Nebenniere, insbesondere des Markes, in dem, wie Kölliker[2]) gezeigt hat, jede chromaffine Zelle in einem dichten Geflecht von Nervenfasern liegt, durch die engen Beziehungen, die das chromaffine System räumlich zum Sympathikus hat (Kohn, Wiesel[3]) und auch dadurch, daß der Nachweis von Adrenalin im Kreislauf noch nicht einwandsfrei gelungen ist. Cybulski[4]) fand eine blutdrucksteigernde Substanz nur im Nebennierenvenenblute, nicht aber im Blute aus andern Gefäßen. Strehl und Weiss[5]) sahen, daß nach einseitiger Nebennierenexstirpation

1) Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol., Bd. 49, p. 369, 1903. Ergebnisse der Physiol. II, 1902. Arch. internation. de Pharmacodynamie XV, 1905, p. 419.

2) Handbuch der Gewebelehre, 1902. Neurol. Centralblatt 1894, p. 744.

3) Literatur bei E. Gierke „Das chromaffine System und seine Pathologie". Ergebnisse der allgem. Pathol. v. Lubarsch-Ostertag X, 1906.

4) Pflügers Archiv, Bd. 74, 1896, p. 146.

5) Pflügers Archiv, Bd. 86, 1901, p. 107.

und Abklemmung der Vene der anderen Nebenniere der Blutdruck absinkt, während Camus und Langlois[1]) beobachteten, daß durch Verschluß und Wiedereröffnung der Nebennierenvenen der Blutdruck nicht verändert wird. Dem negativen Ausfall dieses Versuches möchte ich eine größere Bedeutung beilegen, da ein Sinken des Blutdrucks leicht auch durch Beschädigung der sympathischen Geflechte herbeigeführt werden kann. Im Blut der Nebennierenvene und der Vena cava hat nun R. Ehrmann[2]) mit seiner Froschpupillenmethode Adrenalin nachgewiesen. Zugleich[3]) erhebt er den wichtigen Befund, daß der Blutdruck des Tieres von der Konzentration des Adrenalins im Nebennierenvenenblute unabhängig ist daß ein Tier im Kollaps mit sehr niedrigem Blutdruck ebenso viel Adrenalin in die Vene bringt, wie ein Tier mit stark erhöhtem Blutdruck. Wenn also diese Sekretion aus der Nebenniere in die Vene ein normaler Vorgang ist und nicht etwa durch Verletzungen der Nebennieren oder der sympathischen Nerven vorgetäuscht wird, so ist damit der Mechanismus der Adrenalinwirkung keineswegs erklärt. Denn da das Adrenalin peripher angreift, der Blutdruck aber von der Konzentration im Nebennierenvenenblute unabhängig ist, so muß der wirksame Stoff auf einem anderen Wege an den Ort der Wirksamkeit gelangen. Nur O. B. Meyer[4]) ist es geglückt, mit der Gefäßstreifenmethode eine „adrenalinähnliche Substanz" im Blute nachzuweisen. „In einer Reihe von Versuchen zeigte sich jedesmal eine Kontraktion, die durchaus einer Adrenalinkontraktion ähnlich sieht." Diese Untersuchungen bedürfen aber nach nicht veröffentlichten Versuchen von Ed. Stadler und C. Hirsch noch der Nachprüfung, da die Resultate durchaus nicht konstant zu sein scheinen.[5])

Die Richtigkeit der Ansicht, daß das Adrenalin im Nerven wandert, versuchte ich zunächst durch Experimente an Fröschen zu erweisen.

Versuchsanordnung.

Zu den Versuchen wurden nur Frösche mit kleinen Pupillen verwandt. Die Frösche wurden aufgespannt. An Stelle der Zwecken, die

1) Compt. Rend. Soc. biol. 1900, p. 210.

2) Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol., Bd. 53, 1905, p. 97.

3) ibidem, Bd. 55, 1906.

4) Zeitschr. f. Biologie, Bd. 30 n. F., pag. 374, 1906.

5) Auch die Konzentration dieser „adrenalinartigen Substanz" geht, wie jüngst Schlayer (D. M. W. 1907, p. 1897) gezeigt hat, nicht der Höhe des Blutdrucks parallel. (Anmerkung bei der Korrektur).

auf der Abbildung gezeichnet sind, wurden später Schlingen angele um die ohnehin unangenehm rohen Versuche möglichst zu milde Es wurde sodann ein Ischiadicus in der Länge von 1—2 cm fr präpariert und von den begleitenden Gefäßen unter möglichster V meidung von Blutungen isoliert. Unter dem Nerven wurde eine dc pelte Ligatur um das ganze Bein gelegt und zwischen den beid Ligaturen Knochen und Weichteile durchschnitten, sodaß der Unt schenkel mit dem übrigen Körper nur durch den Nerven zusammenhi Die obere Ligatur wurde festgehalten und an einer Zwecke veranke um eine Dehnung des Nerven durch Anziehen des Oberschenkelstump zu verhüten. Vor der Operation und während derselben wurden Pupillen genau beobachtet. Eine Veränderung ihrer Größe trat keinem Falle ein, selbst nicht, wenn das Tier, wie nur zweimal beme wurde, Schmerz äußerte. Sodann wurde der Frosch sorgfältig ab trocknet und in den Unterschenkel, intramuskulär, 1 ccm einer Adrenal



lösung 1 : 1000 eingespritzt. Um ein Überlaufen von wirksamer Subst an den zentralen Stumpf zu verhüten, wurden verschiedene Vorkehrung getroffen. Anfangs wurden mehrfache Lagen Billrothbattist unter- u zwischengelegt, später wurde außerdem der zentrale Stumpf hochgelag und das ganze Operationsfeld dauernd beobachtet, abgetupft und aufgetupfte Flüssigkeit mit Eisenchlorid auf Adrenalin geprüft. (gleich ich sicher war, daß kein Adrenalin an den zentralen Beinstur kam, ließ ich ein Brett anfertigen, dessen Konstruktion aus Zeichnung zu ersehen ist. Die Unterschenkel liegen auf isolier Brettern, die durch an der Unterseite angebrachte Scharnire mit d Vorderbrett verbunden und nach außen drehbar sind. Der Nerv li frei über dem Zwischenraum. Ein Berühren der beiden Wundfläch oder ein Übertreten von Flüssigkeit nach dem Rumpf oder nach d andern Bein ist ausgeschlossen.

Das Adrenalin bewirkt bei Fröschen, wie Ehrmann[1]) geze hat, eine Steigerung der Hautsekretion und eine Erweiterung

1) Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol., Bd. 53, 1905, p. 137.

Pupille. (Meltzer[1]), Ehrmann.)[2] Ehrmann gibt an, daß nicht alle Froschaugen sich gleichmäßig verhalten, sondern daß individuelle Schwankungen vorkommen.

Ich habe nach der oben beschriebenen Methode 16 Versuche gemacht und in allen Fällen eine nicht immer gleichmäßig starke, aber immer deutliche, mitunter maximale Pupillenerweiterung erhalten.

Ich lasse zunächst ein Versuchsprotokoll folgen.

10. X. 07. Frosch XVIII.

Froschoperationsbrett. Mittelgroßer Frosch. Pupille spitz-oval, kaum mittelweit, linke Pupille etwas enger als die rechte. Bei der Operation gar kein Blutverlust. Pupillen bleiben unverändert. Nerv nach der Operation intakt.

3 Uhr 23.	In den r. Unterschenkel 1 ccm Adrenalin (Parke und Davis) 1 : 1000.
3 „ 28.	Linke Pupille etwas enger.
3 „ 34.	beiders. etwas enger.
3 „ 42.	Rechte Pupille ganz vorübergehend weiter.
3 „ 45.	beiders. etwas weiter.
3 „ 50.	beiders. wieder enger, r. > l.
4 „ 00.	beiders. wieder weiter, wie 3 Uhr 45.
4 „ 12.	Linke Pupille wird schnell weiter, fast maximal, kreisrund.
4 „ 15.	Rechte Pupille wird weiter, l. > r.
4 „ 30.	beiders. ein klein wenig enger, aber doch noch stark erweitert. Der rechte Unterschenkel hat stark genäßt und ist wieder ganz dünn.
4 „ 34.	II. Injektion 0,5 ccm. Beide Pup. werden sofort weiter.
4 „ 42.	Frosch sehr feucht.

Die Erweiterung bleibt konstant bis 5 Uhr 30, bei intensiver Gasglühlichtbeleuchtung.

Eine anfängliche Verengerung der Pupillen wurde 5 mal, ein Schwanken der Weite der Pupillen im Beginn des Versuches ebenfalls 5 mal beobachtet. Die Zeit, die von der Injektion bis zur konstanten Erweiterung der Pupille verstrich, betrug 10—85 Min. Die Dauer der Pupillenerweiterung ist verschieden. Ich habe Zeiträume von 40—203 Minuten beobachtet. In 9 Fällen war die Sekretion der Haut des Rumpfes und des anderen Beines zweifellos gesteigert. Die Steigerung der Hautsekretion scheint etwas früher aufzutreten, als die Pupillenerweiterung. Diese beiden Phänomene scheinen sich gegenseitig so zu beeinflussen, daß die Frösche mit starker Hautsekretion die Pupillenerweiterung schwerer und später

1) Procedings of the soc. for exper. Biology and Medicine, New-York, May 18, 1904, ref. Biochem. C. Bl. II 1912.

2) Arch. f. exp. Path. u. Pharmakol., Bd. 53, 1905. p. 97.

bekommen, als ob das Adrenalin in diesen Fällen in der Haut verbraucht würde. Zur Veranschaulichung lasse ich einen Versuch folgen, aus dem zugleich hervorgeht, daß auch die Hautsekretion durch Angreifen des Adrenalins an der Peripherie verursacht wird.

22. X. 07. Frosch XXIV.

Froschoperationsbrett. Ziemlich großer Frosch. Gar kein Blutverlust. Pupillen spitz-oval, ziemlich eng, r. = l. Beine an Schlingen.

5 Uhr 52.	1 ccm Adrenalin 1 : 1000 vom Hautlappen aus, ohne Verletzung der Haut intramuskulär. Unterschenkelwunde auf einen mit Watte umwickelten Glasstab hochgelagert, um ein Herausfließen von Flüssigkeit aus der Wunde zu verhindern, bezw. die trotzdem eventuell heraustretende Flüssigkeit aufzusaugen. Frosch nur am Bauche feucht. Pupillen bleiben während der Operation unverändert. Intensive Gasglühlichtbeleuchtung.
6 = 00.	Rechter Unterschenkel secerniert mehr.
6 = 05.	= = viel dünnes Sekret.
6 = 18.	Frosch fängt am Rücken an zu secernieren.
6 = 25.	Sehr starke Sekretion am ganzen Körper.
6 = 33.	Pupille kaum erweitert. Sekretion außerordentlich stark.
6 = 45.	Rechter Unterschenkel wieder dünn. II. Inj. 0,5 ccm.
6 = 52.	= = secerniert wieder sehr stark.
7 = 00.	Frosch secerniert andauernd.
7 = 21.	Pupille andauernd unverändert. Operation am linken Bein ohne Blutverlust. Inj. von 1,0 ccm Adrenalin. Während der Operation werden die Pp. ein wenig weiter.
7 = 25.	Beide Pupillen sehr weit und kreisrund. Noch stärkere Sekretion.

Die Pupillen werden noch weiter bis 7 Uhr 35 und sind dann fast maximal. Sie bleiben so bis zum Abbruch der Beobachtung 8 Uhr 05. Auch die Sekretion bleibt stark.

Der Nachweis von Adrenalin im Blute dieser Frösche ist mir bisher nicht gelungen. Außer diesen Versuchen, die die centripetale Leitung des Adrenalins im Froschnerven beweisen, habe ich noch Versuche mit centrifugaler Leitung gemacht, indem ich die Haut des Unterschenkels als Erfolgsorgan benutzte. Ein sehr sinnfälliges Resultat kann man bei dieser Anordnung nicht erwarten, da bei der aufgehobenen Zirkulation eine nennenswerte Sekretion nicht eintraten kann. Ich beobachtete 35—60 Minuten nach Injektion des Adrenalins unter die Rückenhaut, daß die Haut des isolierten Unterschenkels glänzender wurde, dann die Hautdrüsen mehr hervortraten und schließlich eine geringe Sekretion erfolgte, während die Sekretion am Stamm bereits nach ca. 6 Minuten im Gange war.

Bei Fröschen, die ich nach derselben Methode operierte, denen ich aber entweder gar nichts oder andere Gifte einspritzte, habe ich

bei stundenlanger Beobachtung niemals eine nennenswerte Änderung der Pupillengröße oder eine Steigerung der Hautsekretion beobachtet.

War somit der Vorgang der Nervenleitung des Adrenalins erwiesen, so war noch zu entscheiden, ob es sich um einen rein physikalischen Prozeß, etwa Aufsaugung durch Capillarität oder durch Löslichkeit in Lipoiden, oder um einen vitalen Vorgang handele. Wäre das erstere der Fall, so müßten alle Gifte auf diese Weise zur Wirksamkeit kommen. Ich habe Atropin, Strychnin und Curare in beträchtlichen Mengen angewandt, ohne einen Effekt zu erzielen. Auch um Lipoidlöslichkeit kann es sich nicht handeln, da Adrenalin in Olivenöl aus wässeriger Lösung beim Ausschütteln nicht übergeht. Andrerseits habe ich bei einem Frosch, den ich durch eine große Gabe Curare tötete, die Adrenalinwirkung vom Nerven aus nicht eintreten sehen.

Es kann sich also nur um einen vitalen Vorgang handeln, um eine Funktion des Nerven, die wohl von großer physiologischer Bedeutung ist. Da man der Wirkung des Nebennierenextraktes eine spezifische Affinität zu den Endigungen, speziell der sympathischen Nerven, zu Grunde legt, so kann man sich vorstellen, daß bei genügender Konzentration das Adrenalin von Teilchen zu Teilchen in einem Konzentrationsgefälle weitergegeben wird.

Mit diesem Befunde am Froschnerven ist erst ein kleiner Schritt in dieses Gebiet getan. Es wird sich nun darum handeln, die Versuche an höheren Tieren, und hier wohl am besten mit intraneuraler Applikation, weiterzuführen, den Einfluß von Nervengiften auf diese Nervenfunktion festzustellen u. dergl. mehr. Die klinische Bedeutung dieses Befundes, insbesondere für die Pathologie des Sympathikus und der Nebennieren, werde ich bei Mitteilung der Beobachtung, die zu diesen Versuchen geführt hat, erörtern.

Freiburg i. Br., den 29. X. 1907.

XII.

Aus dem pharmakologischen Institut der Universität Kopenhagen.

Untersuchungen über die Nierenfunktion.

II. Über die Ausscheidung der Phosphate bei gesteigerter Harnflut.

Von

Johannes Bock.

Durch seine bekannten Untersuchungen über die Nierenfunktion fand Loewi [1]), daß gleichzeitig mit gesteigerter Wasserabsonderung durch die Niere die Ausfuhr von Harnstoff und Kochsalz vermehrt wurde, während die der Phosphorsäure sich nicht änderte. Wenn er dagegen Natriumphosphat in das Blut einspritzte, die Diurese abklingen ließ und darauf wieder (durch Coff. natr. benz.) eine Diurese einleitete, erzielte er eine bedeutende Zunahme der Phosphorsäureausscheidung im Harn. Loewi nimmt auf Grundlage dieser Versuche an, daß die Phosphorsäure sich normalerweise im Blute nicht in echter Lösung, sondern in colloider Bindung finde, und daß sie im Gegensatz zum Kochsalz und Harnstoff mittels einer echten Sekretion abgesondert werde.

Loewi stützt seine Ansicht, daß die Phosphorsäureausscheidung durch die Diurese nicht vermehrt werde, auf 4 an Hunden ausgeführte Versuche. In dem einen dieser Versuche bewirkte die subkutane Injektion einer 7 proz. Natriumnitratlösung nur eine geringe Zunahme der Harnmenge der folgenden 5¼ Stunden. Die im Laufe dieser Periode angesammelte Harnportion zeigte eine unbedeutende Zunahme des Phosphorsäuregehalts. Im zweiten Versuche, wo der Harn während zweistündiger Perioden angesammelt wurde, bewirkte die subkutane Injektion einer 10 proz. Natriumnitratlösung keine gesteigerte Diurese, wogegen die Phosphorsäureausscheidung erheblich sank. Die Eingabe von 500 ccm Wasser per Sonde bewirkte, daß

1) Dieses Archiv, Bd. 48, S. 410.

die Diurese stieg, und daß die Phosphorsäureausscheidung fast den während der vorhergehenden Perioden gefundenen Wert erreichte. Im dritten Versuche wurde der Harn während achtstündiger Perioden angesammelt und erhielt das Tier alle 8 Stunden die gleiche Nahrung, darnach wurden jedesmal 1,5 g Phloridzin injiziert. Die Diurese wurde durch das Eingießen von 2 l Wasser in den Magen eingeleitet. Die Phosphorsäureausscheidung blieb unverändert. Im vierten Versuche erhielt das Tier gewiegtes Pankreas zur Nahrung. Der Harn wurde während zweistündiger Perioden angesammelt. Die Diurese wurde durch intravenöse Injektion einer Natriumnitratlösung erzeugt, zugleich wurde Phloridzin injiziert. Während der ersten Vorperiode betrug die Phosphorsäureausscheidung 0,107 g, während der zweiten 0,218 g und während der Diureseperiode 0,112 g. Später sinkt die Phosphorsäureausscheidung sehr stark.

Die Richtigkeit des von Loewi aufgestellten Satzes ist von verschiedenen Seiten angefochten worden. So gibt E. Meyer[1]), der an Menschen die Phosphorsäureausscheidung in dem während 24stündiger Perioden angesammelten Harn untersuchte, an, daß bei der Kochsalzdiurese die Phosphorsäureausscheidung zumeist in die Höhe gehe, und daß regelmäßig unter Theophyllinwirkung die Phosphorausscheidung vermehrt werde und zwar sowohl beim normalen als bei Stauungsödem als beim Diabetes insipidus (S. 64). Ich vermag der Ansicht Meyers, daß in seinen Untersuchungen das Theophyllin unter den genannten Umständen regelmäßig eine Zunahme der Phosphorsäureausscheidung bewirkt habe, nicht beizustimmen. Was die 3 untersuchten Fälle des Diabetes insipidus (S. 33) betrifft, so ist im ersten die Phosphorsäureausscheidung am Theophyllintage geringer denn sowohl am vorhergehenden als am folgenden Tage, im zweiten ebenso groß wie am vorhergehenden Tage und im dritten zwar weit größer als am vorhergehenden Tage, jedoch nur um wenig größer als am folgenden Tage. In dem einen der beiden Versuche an Rekonvaleszenten (S. 37) betrug die Phosphorsäureausscheidung an beiden Tagen der Vorperiode 3,14 bezw. 1,40 g, am Theophyllintage 3,14 g und an den beiden folgenden Tagen 1,56 bezw. 3,10 g. Bei dem einen der beiden Ödemkranken hatte die Phosphorsäureausscheidung am ersten Theophyllintage freilich im Vergleich mit den zunächst vorhergehenden Tagen zugenommen (war jedoch kleiner als 6 Tage vorher), als später aber wieder Theophyllin gegeben wurde, war die Phosphorsäureausscheidung

1) Deutsches Archiv f. klin. Med., Bd. 83, S. 1.

geringer als am vorhergehenden Tage. Man kann mithin nicht behaupten, daß Meyer regelmäßig unter Theophyllinwirkung eine Vermehrung der Phosphorsäureausscheidung im Harn gefunden hätte, selbst wenn eine solche zweifelsohne in einigen seiner Fälle vorkommt.

S. Weber[1]) gibt an, daß er in einigen seiner Versuche bei energischer Harnflut eine zweifellose Vermehrung der Phosphate gefunden habe, und zwar nach Nukleïnfütterung. Daß im allgemeinen bei Polyurien die Zunahme der Phosphate verschwindend klein ist, liegt seiner Ansicht nach zum größten Teile daran, daß dieselben in so minimalen Mengen im Blute enthalten sind, daß die Nieren bei einer Polyurie zu wenig Material erhalten, um mehr als minimale, schnell vorübergehende Vermehrung herbeiführen zu können (S. 51). Nur ausnahmsweise beobachtete Weber bei nicht mit Nukleïn gefütterten Tieren ein Steigen der Phosphorsäureausscheidung, und zu beachten ist, daß in den beiden Versuchen, wo man in seinen Tabellen ein Steigen der Phosphorsäuremengen nach Injektion eines Diureticums findet (Versuch 1. VII. 04, S. 10 und Versuch 5, S. 15) dieses Steigen keineswegs mit der vermehrten Diurese zusammenfällt, im Gegenteil hat während der letzteren die Phosphorsäureausscheidung erheblich abgenommen. Die Zunahme tritt erst ein, wenn die Diurese aufgehört hat und die Harnmenge wieder normal geworden ist. Die Resultate der Nukleïnversuche sind nicht ganz leicht zu bewerten, da die Phosphorsäureausscheidung an den Normaltagen von Stunde zu Stunde stark schwankt, und da Weber Vergleiche zwischen Harnportionen anstellt, die an verschiedenen Tagen im Laufe desselben Zeitraums entleert wurden, was stets etwas mißlich ist, wenn die Ausschläge nicht sehr groß und die Ausscheidung nicht sehr regelmäßig sind. In einem seiner 3 Theophyllinversuche (V, S. 19) fand Weber trotz starker Diurese eine bedeutend geringere Phosphorsäureausscheidung während der ersten 5 Stunden nach der Injektion als am Normaltage. Die Minderausscheidung hatte genau dieselbe Größe wie die Vermehrung der Phosphorsäureausscheidung (im Verhältnis zur normalen Ausscheidung gemessen), die einige Tage später an demselben Tiere beim zweiten Theophyllinversuch während der ersten 5 Stunden nach der Injektion gefunden wurde.

Loeb[2]) hat die Versuche Loewis scharf und eingehend kritisiert ohne jedoch selbständige Beiträge zur Lösung der Frage zu leisten, da in allen seinen Versuchen Phosphate injiziert wurden. Betreffs

1) Dieses Archiv, Bd. 54, S. 1.
2) Dieses Archiv, Bd. 54, S. 314.

der Versuchsresultate Loewis meint er, es sei doch möglich, daß eine Niere in den ersten Minuten auf den Peitschenhieb eines Diureticums mit vermehrter P_2O_5-Sekretion oder auch nur mit vermehrter P_2O_5-Ausspülung reagiere; das würde dann natürlich bei zweistündiger Dauer des Versuches verwischt werden können (S. 343).

Betrachten wir die Sache vom Standpunkte Loewis aus, so läßt sich schwerlich behaupten, daß die angeführten Untersuchungen anderer Forscher völlig überzeugend seien. Will man die Wirkung der Diurese auf die Phosphorsäureausscheidung untersuchen, so muß man gewiß, wie Loewi es getan hat, Perioden untersuchen, die ziemlich schnell aufeinanderfolgen, denn erst dann läßt sich annehmen, daß die Absonderungsbedingungen einigermaßen unverändert sind. Dies gilt namentlich, wo es sich um Verbindungen handelt, von denen man meint, daß sie mittels einer „Sekretion“ ausgeschieden werden. Harnportionen, die im Laufe 24stündiger Perioden oder im Laufe gleich großer Zeiträume an verschiedenen Tagen angesammelt wurden, miteinander zu vergleichen, wird hier schwerlich von entscheidender Bedeutung werden können. Dagegen könnte man gegen Loewis Versuche den Einwand erheben, die Zeitperioden, während deren der Harn angesammelt wurde, seien zu lang gewesen (in 2 Versuchen 2 Stunden, im dritten 5¼ und im vierten 8 Stunden). Bedenkt man die äußerst geringen Phosphormengen, die sich im Serum finden, so wäre es ja möglich, daß, wie von Weber und Loeb hervorgehoben, bei vermehrter Diurese sogleich eine Zunahme der Phosphorsäureausscheidung stattfinde, daß diese darauf aber schnell bis unter den normalen Wert sinke, und daß mithin die Schwankungen, wenn man den aus längeren Zeitperioden herrührenden Harn untersucht, verwischt würden. Wünscht man, diese Verhältnisse genau zu untersuchen, so ist es notwendig, weit kürzere Zeitperioden, z. B. 15 bis 30 Minuten, zu benutzen, wie es ja auch Loewi und viele andere getan haben, um die Ausscheidung anderer Stoffe bei gesteigerter Harnflut zu studieren. Wenn Loewi und andere Forscher für ihre Untersuchungen über die PO_4-Ausscheidung so lange Zeitperioden wählten, lag der Grund wohl wesentlich darin, daß sie zur Bestimmung der Phosphorsäure Urantitrierung anwandten, eine Methode, die ziemlich bedeutende Mengen Harn und nicht unbeträchtliche Phosphorsäuremengen erfordert, um ein zuverlässiges Resultat zu geben. Loewi und Weber benutzten Hunde zu ihren Versuchen, während ich zu den folgenden Untersuchungen Kaninchen benutzte. Diese Tiere eignen sich bekanntlich vorzüglich zu Diureseversuchen, und ihre

Phosphorsäureausscheidung ist, wie aus dem Folgenden hervorgehen wird, gewöhnlich keineswegs gering, doch muß man hier zur Phosphorsäurebestimmung andere Methoden benutzen als Urantitrierung.

Um die Phosphorsäure zu bestimmen, bediente ich mich bei den folgenden Untersuchungen der Neumannschen Phosphorsäurebestimmung. J. Gregersen[1]), Assistent am hiesigen Institute, hat vor kurzem erörtert, welche Genauigkeit sich mittels dieser Methode erzielen läßt, wenn gewisse Vorsichtsmaßregeln beobachtet werden, und gefunden, daß der Fehler 0,06 mg P nicht übersteigt, und daß die Methode sogar bei Analysen mit einem sehr geringen Phosphorgehalt (1 mg P) brauchbar ist.

Mittels der Urantitrierung wird bekanntlich die Phosphorsäuremenge bestimmt, mittels der Neumannschen Phosphorsäurebestimmung nebst vorhergehender Veraschung, nach welchem Verfahren die folgenden Analysen ausgeführt sind, dagegen der Gesamtgehalt des Harns an Phosphor. Letztere Methode wird also etwas größere Werte ergeben als die Urantitrierung, weil der Harn außer Phosphaten auch noch andere phosphorhaltige Stoffe enthält, deren Menge den vorliegenden Untersuchungen[2]) zufolge jedoch nur gering ist, so daß nur 2—3 Proz. der gesamten Phosphormenge in dieser Form anzutreffen sein sollen. Um zu erfahren, ob diese Verhältnisse bei meinen Untersuchungen eine Rolle spielten, bestimmte ich in einer Reihe von Fällen sowohl in normalem Kaninchenharn als in Harn, der während starker Diurese entleert worden war, teils die totale Phosphormenge, teils die als Phosphat anwesende Menge Phosphor. Der Harn wurde in zwei gleiche Teile geteilt, in dem einen Teile wurde der totale Phosphor nach Neumann bestimmt, in dem andern Teile wurde die Phosphorsäure mit Ammoniak und Calciumchlorid oder Baryumchlorid ausgefällt und in dem mit warmem Wasser, Alkohol und Äther ausgewaschenen Bodensatz ebenfalls der Phosphor nach Neumann bestimmt. Der Unterschied zwischen diesen Werten ist diejenige Menge Phosphor, die sich in anderer Bindung denn als Phosphat im Harn findet. Es erwies sich indes, daß diese Größe sowohl unter normalen Verhältnissen als auch bei heftiger Diurese sehr gering (siehe Versuch XI, X, XII, XIII), und im Vergleich mit den bei gesteigerter Diurese gefundenen Ausschlägen ganz verschwindend war. Ich ließ deshalb diese Größe außer Be-

1) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 53, S. 453.

2) Oertel, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 26, S. 123. Keller, ebenda, Bd. 29, S. 146.

tracht und berechnete in den Versuchen die bei der Analyse gefundenen totalen Phosphormengen als Phosphorsäure.

Die Versuchstiere wurden nicht narkotisiert. Der Harn wurde mittels eines elastischen Katheters entleert und die Blase mit lauwarmem destilliertem Wasser ausgespült. In denjenigen Fällen, wo intravenöse Injektion unternommen wurde, führte ich diese mit Hilfe des von mir beschriebenen Infusionsapparats[1]) aus. Die Tiere wurden mit Grünfutter und Hafer gefüttert; wo nichts anderes bemerkt ist, wurde das letzte Futter am Nachmittage vor dem Versuchstage gegeben,

Zuckerdiurese.

Bei den folgenden 3 Versuchen wurden im Laufe von 30 Min. 30 ccm einer 50proz. Glykoselösung mit einer Geschwindigkeit von 1 ccm pro Min. in die Vena saphena injiziert.

Versuch 1.

20. IV. 1907. Kaninchen. Gewicht 2835 g.

	Harnmenge ccm in 15 Min.	PO_4 mg in 15 Min.	PO_4 Proz.	
9 Uhr 55 bis 12 Uhr 25	1,4	3,7	0,264	
12 Uhr 25 bis 2 Uhr 55	1,6	3,4	0,213	
2 Uhr 55: Inf. beginnt				2 Uhr 55. 100 ccm dest. Wasser in den Magen.
2 Uhr 55 bis 3 Uhr 10	11,0	10,0	0,091	
3 Uhr 10 bis 3 Uhr 25	33,1	5,1	0,015	
3 Uhr 25: Inf. hört auf				
3 Uhr 25 bis 3 Uhr 40	26,0	5,2	0,020	
3 Uhr 40 bis 4 Uhr 55	5,0	2,6	0,052	

Versuch 2.

27. IV. 1907. Kaninchen. Gewicht 2950 g.

	Harnmenge ccm in 15 Min.	PO_4 mg in 15 Min.	PO_4 Proz.
9 Uhr 50 bis 12 Uhr 50	1,6	6,0	0,375
12 Uhr 50: Inf. beginnt			
12 Uhr 50 bis 1 Uhr 5	15,0	6,9	0,046
1 Uhr 5 bis 1 Uhr 20	70,0	10,8	0,015
1 Uhr 20: Inf. hört auf			
1 Uhr 20 bis 1 Uhr 50	30,6	5,2	0,017
1 Uhr 50 bis 3 Uhr 50	1,2	1,7	0,142
3 Uhr 50 bis 6 Uhr 50	0,2	1,8	0,900
6 Uhr 50 bis 6./9. 9 Uhr 20 a. m.	?	Spuren	

1) Dieses Archiv, Bd. 57, S. 178.

Versuch 3.

). IV. 1904. Kaninchen. Gewicht 2540 g. Zum letzten Mal gefüttert vor 4 Tagen.

	Harnmenge ccm in 15 Min.	PO₄ mg in 15 Min.	PO₄ Proz.	
Uhr 10 bis 9 Uhr 10	1,1	3,0	0,266	
Uhr 10 bis 12 Uhr 10	0,5	2,9	0,580	
Uhr 10: Inf. beginnt				
Uhr 10 bis 12 Uhr 25	24,0	4,5	0,019	
Uhr 25 bis 12 Uhr 40	64,0	6,6	0,010	
Uhr 40: Inf. hört auf				
Uhr 40 bis 1 Uhr 10	22,4	2,1	0,009	
Uhr 10 bis 6 Uhr 10	0,6	0,2	0,033	1 Uhr 10. 130 ccm Wasser i. den Magen inj.
Uhr 10 bis 1./5. 9 Uhr 10 a. m.	0,6	0,6	0,100	
Uhr 10 bis 9 Uhr 10 p. m.	0,7	1,3	0,186	
Uhr 10 bis 2./5. 9 Uhr 10 a. m.	0,8	2,3	0,288	

Die Versuche zeigen mit völliger Sicherheit, daß, wenn man eim Kaninchen mittels intravenöser Injektion einer tarken Zuckerlösung die Diurese steigert, die mit dem arn ausgeschiedene Phosphorsäuremenge sehr beeutend zunimmt. Es findet sich keine Proportionalität der röße der Phosphorsäuremenge zur Harnmenge, und die größte hosphorsäureausscheidung braucht nicht mit der stärksten Diurese isammenzufallen (siehe Versuch I). Nach dem Aufhören der Inktion entsteht schnell eine starke Verminderung der Phosphoriureausscheidung, so daß diese weit geringer wird als während er Normalperiode, welche Wirkung sehr lange andauert. Diese arke, andauernde Verminderung der Phosphorsäureausscheidung ährend der Nachperioden, die aus den Versuchen II und III erchtlich ist, rührt nicht von der vermehrten Ausscheidung her, die ährend der Diureseperiode stattgefunden hat, denn dazu ist die erminderung gar zu bedeutend, beruht aber wahrscheinlich auf iner Änderung des Stoffwechsels, die durch die große injizierte uckermenge hervorgerufen wird. Die Versuche geben gute Beipiele, wie notwendig es bei Versuchen dieser Art ist, den Harn us kurzen Zeitperioden zu untersuchen. Hätte man im Versuch I en während der ersten 2 Stunden nach Anfang der Injektion abesonderten Harn als eine Gesamtheit angesammelt und unterucht, so würde man gefunden haben, daß in 15 Minuten durchchnittlich 4,2 mg PO_4 ausgeschieden worden seien, was ja nur eine nbedeutende Vermehrung wäre. Hätte man im Versuch II den ährend der ersten 3 Stunden nach der Injektion angesammelten

Harn als eine einzige Menge analysiert, so würde man gefunden haben, daß durchschnittlich in 15 Minuten 3,5 mg Phosphorsäure ausgeschieden worden seien, mithin viel weniger als während der Normalperiode.

Salzdiurese,

In den beiden folgenden Versuchen wurden an Kaninchen in die V. saphena Salzlösungen injiziert, die 2,93 Proz. Na Cl und 7,1 Proz. Na_2SO_4 enthielten. Die Injektion geschah mit einer Geschwindigkeit von 1 ccm. pro Min., es wurden in beiden Fällen im Laufe von 30 Minuten 30 ccm injiziert.

Versuch 4.

8. V. 1907. Kaninchen. Gewicht 2450. Hat während der letzten 3 Tage vor dem Versuche nur Wasser, kein Futter erhalten.

	Harnmenge ccm in 15 Min.	PO_4	
		mg in 15 Min.	Proz.
9 Uhr 30 bis 12 Uhr 30	0,3	3,0	1,000
12 Uhr 30. Inf. beginnt			
12 Uhr 30 bis 12 Uhr 45	5,6	2,9	0,052
12 Uhr 45 bis 1 Uhr	35,2	5,1	0,014
1 Uhr: Inf. hört auf			
1 Uhr bis 1 Uhr 30	13,1	2,1	0,016
1 Uhr 30 bis 3 Uhr 30	3,5	2,3	0,066
3 Uhr 30 bis 9./5. 10 Uhr 30 a. m.	0,9	4,4	0,489
10 Uhr 30 bis 6 Uhr 30	1,1	4,2	0,382

Versuch 5.

30. IX. 1907. Kaninchen. Gewicht 2880 g.

	Harnmenge ccm in 15 Min.	PO_4	
		mg in 15 Min.	Proz.
8 Uhr 50 bis 10 Uhr 50	4,1	1,5	0,037
10 Uhr 50: Inf. beginnt			
10 Uhr 50 bis 11 Uhr 5	10,0	2,5	0,025
11 Uhr 5 bis 11 Uhr 20	51,0	7,4	0,015
11 Uhr 20: Inf. hört auf			
11 Uhr 20 bis 11 Uhr 35	23,4	3,2	0,014
11 Uhr 35 bis 11 Uhr 50	10,5	1,6	0,015
11 Uhr 50 bis 12 Uhr 20	7,3	1,2	0,017
12 Uhr 20 bis 12 Uhr 50	3,2	1,7	0,053
12 Uhr 50 bis 1 Uhr 50	2.7	1,8	0,067

Im Versuche IV erblickt man während stärkster Diurese eine unzweifelhafte Vermehrung der Phosphorsäureausscheidung, die sich indes schnell wieder verliert. Wäre der Harn während der ersten Stunde nach der Injektion als Gesamtheit angesammelt worden, so würde man gefunden haben, daß durchschnittlich in 15 Minuten 3,05 mg PO_4 ausgeschieden worden

en, was also dem Werte der Normalperiode gleich wäre. Im ›rsuch V sieht man während stärkster Diurese eine hr beträchtliche Vermehrung der Phosphorsäureausheidung, die bis auf fast das Fünffache des Normalwertes anigt. Die vermehrte Ausscheidung schwindet schnell nach dem fhören der Injektion. Eine darauf eintretende starke, andauernde rminderung der Phosphorsäureausscheidung, wie bei der Zuckerırese, wird bei der Salzdiurese uicht vorgefunden.

Purindiurese.

Diuretinversuche.

Versuch 6.

V. 1907. Kaninchen. Gewicht 2820 g. Zuletzt gefüttert d. 10. V., den folgenden Tagen nur Wasser. Von 1 Uhr 12 bis 1 Uhr 32 rden in die V. saphena 30 ccm einer 1 proz. Diuretinlösung injiziert.

	Harnmenge ccm in 15 Min.	PO_4	
		mg in 15 Min.	Proz.
9 Uhr 12 bis 11 Uhr 12	0,2	3,5	1,750
11 Uhr 12 bis 1 Uhr 12	0,3	3,7	1,233
1 Uhr 12: Inj. beginnt			
1 Uhr 12 bis 1 Uhr 27	0,4	5,9	1,475
1 Uhr 27 bis 1 Uhr 42	10,0	7,1	0,071
1 Uhr 42: Inj. hört auf			
1 Uhr 42 bis 2 Uhr 12	2,5	3,3	0,132
2 Uhr 12 bis 4 Uhr 12	1,6	0,7	0,044
4 Uhr 12 bis 7 Uhr 12	1,4	0,6	0,043
7 Uhr 12 bis 15./5. 9 Uhr 12 a. m.	0,5	3,7	0,740

Versuch 7.

V. 1907. Kaninchen. Gewicht 2800 g. Von 11 Uhr 18 bis Uhr 48 werden in die V. saphena 30 ccm einer 2 proz. Diuretinlösung injiziert.

	Harnmenge ccm in 15 Min.	PO_4	
		mg in 15 Min.	Proz.
9 Uhr 18 bis 11 Uhr 18	0,7	2,4	0,343
11 Uhr 18: Inj. beginnt			
11 Uhr 18 bis 11 Uhr 33	2,7	6,2	0,230
11 Uhr 33 bis 11 Uhr 48	13,1	6,7	0,051
11 Uhr 48: Inj. hört auf			
11 Uhr 48 bis 12 Uhr 18	1,7	2,4	0,141
12 Uhr 18 bis 2 Uhr 18	1,4	3,6	0,257
2 Uhr 18 bis 4 Uhr 18	0,4	3,3	0,825
4 Uhr 18 bis 8 Uhr 18	?	3,5	

Obschon die Diurese in diesen Versuchen keinen besonders ıen Grad erreicht, sieht man doch eine sehr bedeutende Ver-

mehrung der Phosphorsäureausscheidung. Diese Vermehrung erscheint sehr bald nach Beginn der Injektion, schon um einen Zeitpunkt, wo die Diurese erst in geringem Grade zugenommen hat.

Theophyllinversuche.

Versuch 8.

27. VI. 07. Kaninchen. Gewicht 2820 g.

	Harnmenge ccm in 30 Min.	PO_4 mg in 30 Min.	PO_4 Proz.	
9 Uhr 45 bis 12 Uhr 15	1,1	4,6	0,419	
12 Uhr 15				0,5 g Theophyllin in 100 ccm Wasser gelöst per os.
12 Uhr 15 bis 12 Uhr 45	32,8	12,4	0,038	
12 Uhr 45 bis 1 Uhr 15	17,9	8,8	0,048	
1 Uhr 15 bis 2 Uhr 15	11,2	5,5	0,050	
2 Uhr 15 bis 3 Uhr 15	8,6	3,5	0,042	
3 Uhr 15 bis 4 Uhr 15	6,6	3,1	0,047	

Das Tier wurde am nächsten Morgen tot vorgefunden.

Versuch 9.

9. VII. 07. Kaninchen. Gewicht 2690 g. Letztes Futter 5. VII.

	Harnmenge ccm in 30 Min.	PO_4 mg in 30 Min.	PO_4 Proz.	
8./7. 4 Uhr 45 p. m. bis 9./7. 9 Uhr 15	1,2	8,7	0,722	
9 Uhr 15 bis 12 Uhr 15	0,9	9,2	1,021	
12 Uhr 15				0,25 g Theophyllin in 100 ccm Wasser gelöst per os.
12 Uhr 15 bis 12 Uhr 45	1,0	7,7	0,770	
12 Uhr 45 bis 1 Uhr 15	14,0	19,3	0,138	
1 Uhr 15 bis 1 Uhr 45	> 20,0[1])	> 14,4	0,072	
1 Uhr 45 bis 2 Uhr 45	3,0	9,2	0,307	

Versuch 10.

7. IX. 07. Kaninchen. Gewicht 2600 g.

	Harnmenge ccm in 30 Min.	PO_4 mg in 30 Min.	PO_4 Proz.	
9 Uhr bis 12 Uhr 15[1])	3,6	10,2	0,283	
12 Uhr 15				0,25 g Theophyllin in 50 ccm Wasser gelöst per os.
12 Uhr 15 bis 12 Uhr 45[2])	16,1	mißlungen		
12 Uhr 45 bis 1 Uhr 15	27,7	15,6	0,058	
1 Uhr 15 bis 1 Uhr 45	22,9	15,4	0,067	
1 Uhr 45 bis 2 Uhr 45	14,0	14,7	0,105	
2 Uhr 45 bis 3 Uhr 45	5,3	11,8	0,223	

1) Beim Ansammeln gingen einige ccm Harn verloren.

2) Gefunden (in der halben Harnmenge) Total P.: 10,86 mg, P. als Phosphat 10,01 mg.

3) Gefunden (in der halben Harnmenge) Total P.: 2,54 mg, P als Phosphat 2,25 mg.

Versuch 11.

14. IX. 07. Kaninchen. Gewicht 2720 g.

	Harnmenge ccm in 30 Min.	PO4		
		mg in 30 Min.	Proz.	
9 Uhr 15 bis 11 Uhr 15 [1]	4,5	1,8	0,040	
11 Uhr 15				0,25 g Theophyllin in 50 ccm Wasser gelöst per os.
11 Uhr 15 bis 11 Uhr 45 [2]	5,9	10,6	0,180	
11 Uhr 45 bis 12 Uhr 15 [3]	35,4	10,8	0,030	
12 Uhr 15 bis 12 Uhr 45	30,0	9,4	0,031	
12 Uhr 45 bis 1 Uhr 15	17,8	9,2	0,052	
1 Uhr 15 bis 2 Uhr 15	16,0	10,9	0,068	
2 Uhr 15 bis 3 Uhr 15	9,4	10,5	0,112	

Die Theophyllinversuche, bei denen das angewandte Diureticum per os eingegeben wurde, haben ein ganz ähnliches Ergebnis wie die Diuretinversuche: in allen 4 Versuchen sieht man nach dem Theophyllin eine bedeutende Vermehrung der Phosphorsäureausscheidung. So steigt diese im Versuch X um 50 Proz., im Versuch XI bis auf das Doppelte, im Versuch VIII bis auf das Dreifache und im Versuch XI bis auf das Sechsfache. Im letztgenannten Versuche ist die Phosphorsäureausscheidung während der Normalperiode sehr gering. Unter dem Einflusse des Theophyllins steigt die Phosphormenge im Harn also sehr bedeutend und behauptet darauf 4 Stunden hindurch, solange das Tier beobachtet wurde, diesen hohen Wert fast unverändert, obschon die Diurese wieder abnimmt. Ein ähnliches Verhalten finden wir in 3 Theophyllinversuchen XVI, XVII und XVIII, die unter der Wasserdiurese zur Besprechung kommen werden, ebenso wie im Versuch X. Nur im Versuch 8 ist die Phosphorsäureausscheidung während der Nachperiode bis unter den normalen Wert gesunken. Diese andauernde Vermehrung der Phosphorsäureausscheidung scheint demnach den Purinderivaten eigentümlich zu sein. In einem der Diuretinversuche gewahrt man allerdings eine bedeutende Verminderung nach dem Aufhören der Injektion, hier ist es aber ja nicht ausgeschlossen, daß die Salicylsäure eine Rolle gespielt haben könnte, auch wurde bei diesen Versuchen das Diureticum intravenös injiziert.

1) Gefunden (in der halben Harnmenge) Total P.: 1,20 mg, P als Phosphat 1,16 mg.

2) Gefunden (in der halben Harnmenge) Total P.: 1,73 mg, P als Phosphat 1,69 mg.

3) Gefunden (in der halben Harnmenge) Total P.: 1,77 mg, P als Phosphat 1,67 mg.

Wasserdiurese.

Versuch 12.

15. VII. 07. Kaninchen. Gewicht 2570 g.

	Harnmenge ccm in 1 Stunde	PO4 mg in 1 Stunde	PO4 Proz.	
9 Uhr 50 bis 12 Uhr 20 [1])	7,1	12,9	0,182	
12 Uhr 20				150 ccm angewärmtes Leitungswasser per os.
12 Uhr 20 bis 1 Uhr 20 [2])	27,0	15,8	0,058	
1 Uhr 20				150 ccm Wasser p. os.
1 Uhr 20 bis 2 Uhr 20	67,6	14,6	0,022	
2 Uhr 20 bis 3 Uhr 20	81,0	13,9	0,017	
3 Uhr 20 bis 4 Uhr 20	68,0	15,2	0,022	

Versuch 13.

15. VII. 07. Kaninchen. Gewicht 2720 g.

	Harnmenge ccm in 1 Stunde	PO4 mg in 1 Stunde	PO4 Proz.	
9 Uhr 50 bis 12 Uhr 50 [3])	4,3	11,0	0,256	
12 Uhr 50				200 ccm Leitungswasser per os.
12 Uhr 50 bis 1 Uhr 50 [4])	11,0	10,9	0,099	
1 Uhr 50				200 ccm Wasser p. os.
1 Uhr 50 bis 2 Uhr 50	69,8	12,5	0,018	
2 Uhr 50 bis 3 Uhr 50	116,2	8,4	0,007	
3 Uhr 50 bis 4 Uhr 50	87,0	9,8	0,011	

Versuch 14.

26. IX. 07. Kaninchen. Gewicht 2950 g.

	Harnmenge ccm in 30 Min.	PO4 mg in 30 Min.	PO4 Proz.	
10 Uhr 30 bis 12 Uhr 30	2,4	10,2	0,425	
12 Uhr 30				200 ccm Leitungswasser per os.
12 Uhr 30 bis 1 Uhr	0,6	9,9	1,650	
1 Uhr bis 1 Uhr 30	3,9	10,2	0,262	
1 Uhr 30 bis 2 Uhr	35,6	8,5	0,024	
2 Uhr bis 2 Uhr 30	38,0	6,6	0,017	
2 Uhr 30 bis 3 Uhr	41,4	8,6	0,021	
3 Uhr bis 3 Uhr 30	37,7	8,8	0,023	
3 Uhr 30 bis 4 Uhr	32,2	9,7	0,030	
4 Uhr bis 4 Uhr 30	19,7	9,9	0,050	
4 Uhr 30 bis 5 Uhr	4,2	10,9	0,260	

1) Gefunden (in der halben Harnmenge) Total P: 7,70 mg, P als Phosphat 6,90 mg.

2) Gefunden (in der halben Harnmenge) Total P: 2,55 mg, P als Phosphat 2,38 mg.

3) Gefunden (in der halben Harnmenge) Total P: 5,40 mg, P als Phosphat 4,95 mg.

4) Gefunden (in der halben Harnmenge) Total P: 1,78 mg, P als Phosphat 1,58 mg.

Versuch 15.

3. X. 07. Kaninchen. Gewicht 2735 g.

	Harnmenge ccm in 30 Min.	PO_4 mg in 30 Min.	PO_4 Proz.	
10 Uhr 15 bis 11 Uhr 45	3,1	9,6	0,397	
11 Uhr 45				200 ccm Leitungswasser per os.
11 Uhr 45 bis 12 Uhr 15	1,9	7,8	0,411	
12 Uhr 15 bis 12 Uhr 45	5,7	7,9	0,139	
12 Uhr 45 bis 1 Uhr 15	19,3	8,3	0,043	
1 Uhr 15 bis 1 Uhr 45	26,0	7,6	0,029	
1 Uhr 45 bis 2 Uhr 15	28,2	8,3	0,030	
2 Uhr 15 bis 2 Uhr 45	25,7	8,5	0,033	
2 Uhr 45 bis 3 Uhr 15	18,9	8,3	0,044	

Versuch 16.

1. X. 07. Kaninchen. Gewicht 3700 g.

	Harnmenge ccm in 30 Min.	PO_4 mg in 30 Min.	PO_4 Proz.	
9 Uhr 7 bis 11 Uhr 7	7,8	8,2	0,105	
11 Uhr 7				250 ccm Leitungswasser per os.
11 Uhr 7 bis 11 Uhr 37	2,4	7,2	0,300	
11 Uhr 37 bis 12 Uhr 7	30,1	7,3	0,024	
12 Uhr 7 bis 12 Uhr 37	67,1	13,2	0,019	
12 Uhr 37 bis 1 Uhr 7	50,3	7,7	0,015	
1 Uhr 7				0,25 g Theophyllin in 25 ccm Wasser gelöst per os.
1 Uhr 7 bis 1 Uhr 37	73,0	14,8	0,020	
1 Uhr 37 bis 2 Uhr 7	52,9	15,0	0,028	
2 Uhr 7 bis 2 Uhr 37	20,0	14,5	0,073	
2 Uhr 37 bis 3 Uhr 7	8,2	13,6	0,166	
3 Uhr 7 bis 4 Uhr 7	7,5	10,9	0,145	

Versuch 17.

3. X. 1907. Kaninchen. Gewicht 2950 g. Das Tier war acht Tage vorher zum Versuch 14 (Wasserdiurese) benutzt worden.

	Harnmenge ccm in 30 Min.	PO_4 mg in 30 Min.	PO_4 Proz.	
9 Uhr 20 bis 10 Uhr 50	1,3	6,7	0,515	
10 Uhr 50				200 ccm Leitungswasser per os.
10 Uhr 50 bis 11 Uhr 20	1,0	6,8	0,680	
11 Uhr 20 bis 11 Uhr 50	3,0	10,2	0,340	
11 Uhr 50 bis 12 Uhr 20	24,7	9,4	0,038	
12 Uhr 20 bis 12 Uhr 50	25,6	10,1	0,039	
12 Uhr 50 bis 1 Uhr 20	27,8	6,5	0,023	
1 Uhr 20 bis 1 Uhr 50	31,1	5,9	0,019	
1 Uhr 50 bis 2 Uhr 20	26,3	6,0	0,023	
2 Uhr 20 bis 2 Uhr 50	25,7	11,3	0,044	

	Harnmenge ccm in 30 Min.	PO_4 mg in 30 Min.	PO_4 Proz.	
2 Uhr 50 bis 3 Uhr 20	12,0	10,7	0,089	
3 Uhr 20				0,25 g Theophyllin in 25 ccm Wasser gelöst per os.
3 Uhr 20 bis 3 Uhr 50	19,0	15,2	0,080	
3 Uhr 50 bis 4 Uhr 20	12,5	13,9	0,111	
4 Uhr 20 bis 4 Uhr 50	4,5	11,3	0,251	

Versuch 18.

12. X. 07. Kaninchen. Gewicht 2670 g.

	Harnmenge ccm in 30 Min.	PO_4 mg in 30 Min.	PO_4 Proz.	
9 Uhr 10 bis 11 Uhr 10	1,4	2,1	0,150	
11 Uhr 10				200 ccm Leitungswasser per os.
11 Uhr 10 bis 11 Uhr 40	3,0	} 2,3	—	
11 Uhr 40 bis 12 Uhr 10	26,3		—	
12 Uhr 10 bis 12 Uhr 40	38,0	} 1,8	—	
12 Uhr 40 bis 1 Uhr 10	50,1		—	
1 Uhr 10 bis 1 Uhr 40	37,2	1,9	0,005	
1 Uhr 40				0,25 g Theophyllin in 50 ccm Wasser gelöst per os.
1 Uhr 40 bis 2 Uhr 10	84,4	3,0	0,004	
2 Uhr 10 bis 2 Uhr 40	48,7	5,6	0,011	
2 Uhr 40 bis 3 Uhr 10	16,9	5,5	0,033	
3 Uhr 10 bis 3 Uhr 40	7,6	7,9	0,104	
3 Uhr 40 bis 4 Uhr 10	4,2	6,7	0,160	
4 Uhr 10 bis 13. X. 9 Uhr 10 a. m.	1,9	7,5	0,395	

Aus obenstehenden Versuchen ist zu ersehen, daß die Phosphorsäureausscheidung sich während der Wasserdiurese ganz anders verhält als in den vorher beschriebenen Versuchen. Im Gegensatze zu diesen verändert die Phosphorsäureausscheidung sich während der Wasserdiurese nur sehr wenig und wird sogar häufig während stärkster Diurese vermindert gefunden. Im Versuch XII bemerkt man nach der ersten Wasserinjektion eine ziemlich geringe Zunahme der Phosphorsäureausscheidung, und letztere nimmt während der beiden folgenden Perioden ab, wo nach wiederholter Injektion von Wasser eine sehr heftige Diurese entsteht. Im Versuch XIII ist die PO_4-Ausscheidung während der meisten untersuchten Perioden der Diurese geringer als während der Normalperiode, nur ein einziges Mal erreicht sie einen etwas höheren Wert, und diese Vermehrung ist zu gering, um ihr einige Bedeutung beizumessen. In den Versuchen XIV, XV und XVIII ist die Phosphorsäureausscheidung während fast sämtlicher untersuchten Perioden geringer als während der Normalperiode, wenige Male fast von derselben Größe. Diese 5 Versuche deuten darauf

in, daß die Wasserdiurese keinen wesentlichen Einfluß auf die hosphorsäureausscheidung hat. Die beiden noch nicht genannten ersuche nehmen eine Sonderstellung ein. Im Versuch XVI ist die O_4-Ausscheidung während der beiden ersten Perioden nach der Vasserinjektion in geringem Grade gesunken, die Diurese dagegen ährend der letzten Periode 11 Uhr 37—12 Uhr 7 bis auf 30 ccm estiegen. Während der folgenden Periode steigt die Harnmenge is auf 67 ccm, die Phosphorsäureausscheidung bis auf 13,2 mg, . h. 63 Proz. über den Normalwert, während der darauf folgenden alben Stunde sinkt die PO_4-Ausscheidung trotz sehr starker Diurese ber unter den Normalwert. Dieses jähe, starke Steigen, das man ur während der genannten Periode antrifft, das aber während so-'ohl der vorhergehenden als der folgenden Periode, wo die Diurese och ebenfalls heftig ist, nicht einmal angedeudet wird, steht als ine ganz isolierte Erscheinung da, und es findet sich durchaus ichts Entsprechendes in den früher besprochenen Versuchsreihen, 'o überall eine deutliche Zunahme der Phosphorsäureausscheidung tattfindet, sobald die Harnmenge nur einigermaßen zugenommen at, ja, gewöhnlich schon bei einer geringen Vermehrung der Diu-ese. Das genannte Steigen muß deshalb wohl auf speziellen Ver-ältnissen des betreffenden Tieres beruhen. Im Versuch XVII chwankt die Phosphorsäureausscheidung nach der Wasserinjektion ı eigentümlicher Weise. Sie steigt im Laufe der ersten Stunde, 'ährend die Diurese fast unverändert bleibt, sinkt darauf bei ärkster Diurese bis unter den Normalwert, um bei abnehmender iurese wieder stark zu steigen. Es ist gewiß anzunehmen, daß ie Phosphorsäureausscheidung bei diesem Tiere überhaupt von tunde zu Stunde sehr schwankend war. Unter allen Umständen ehen die großen Schwankungen der Phosphorsäureauscheidung in einer Beziehung mit den Schwankungen der Diurese, indem sie rößtenteils in gerade entgegengesetzter Richtung gehen. Möglich t es, daß die sonderbaren Unregelmäßigkeiten dieses Versuches avon herrühren, daß das Tier 8 Tage vorher zu einem Wasser-iureseversuche (XIV) benutzt worden war, und unter dessen Nach-irkungen sich anders verhielt als ein normales Tier. Diese nsicht wird dadurch bestärkt, daß das Tier sich in dem 8 Tage orher angestellten Versuche XIV ganz wie die anderen Versuchs-ere verhielt, indem die Phosphorsäureausscheidung während der iurese unverändert oder auch vermindert war.

Betrachtet man die Wasserversuche als Gesamtheit und vergleicht ıan sie mit den oben besprochenen Versuchsreihen über Zuckerdiurese

Salzdiurese und Purindiurese, so kann man wohl nur zu dem Ergebnisse kommen, daß *die Wasserdiurese gewöhnlich keinen deutlichen Einfluß auf die Größe der Phosphorsäureausscheidung übt.* Dieses Ergebnis erhält eine starke Stütze durch die Betrachtung der Versuche XVI, XVII und XVIII. Nachdem die durch Wasserinjektion erzeugte Diurese abzuklingen begonnen hatte, wurde in diesen Versuchen Theophyllin per os gegeben. Die Wirkung ist in allen 3 Versuchen ganz dieselbe: es entsteht eine starke und andauernde Vermehrung der Phosphorsäureausscheidung. Im Versuch XVI, wo das erwähnte jähe Steigen während stärkster Diurese stattfand, steigt die Phosphorsäureausscheidung nach dem Theophyllin bis bedeutend über den genannten Maximalwert und erhält sich lange Zeit hindurch auf fast derselben Höhe, obschon die Harnmenge allmählich stark abnimmt. Im Versuch XVII wo die Phosphorsäureausscheidung nach Wasserinjektion stark schwankend ist, variiert die Harnmenge mehrere Stunden lang zwischen 25 und 31 ccm. Während abklingender Diurese wird Theophyllin injiziert. Die Diurese wird hierdurch nicht sonderlich vermehrt, in der ersten halben Stunde beträgt sie 19 ccm, in der folgenden 12,5 ccm. Dagegen ist die Phosphorsäureausscheidung während dieser Perioden bedeutend größer als während irgendeiner der 9 untersuchten Perioden nach der Wasserinjektion. Am deutlichsten spricht jedoch der Versuch XVIII. Hier war die Phosphorsäureausscheieung während der Normalperiode sehr gering, und sie verändert sich nicht merkbar nach der Wasserinjektion, obwohl die Diurese sehr stark zunimmt. Nach dem Theophyllin nimmt sowohl die Diurese als die Phosphorsäureausscheidung während der ersten halben Stunde zu, während der folgenden Perioden sieht man aber das sonderbare Verhalten, daß die Phosphorsäureausscheidung, während die Harnmenge abnimmt, bedeutend zunimmt und ihr Maximum in einer Periode erreicht, wo während 30 Min. nur 7,9 ccm Harn abgesondert werden. Diese Versuche zeigen zur Genüge, daß die Phosphorsäureausscheiduug bei der Purindiurese einen ganz andern Charakter besitzt und sich ganz anders verhält als bei der Wasserdiurese. *Während also beim Kaninchen die Zuckerdiurese, die Salzdiurese und die Purindiurese konstant eine bedeutende Vermehrung der Phosphorsäureausscheidung im Harn bewirken, wird die Wasserdiurese gewöhnlich keine Wirkung auf die Phosphorsäureausscheidung üben.*

Das Resultat, das meine Versuche ergeben haben, läßt sich icht mit Loewis Ansicht von der Ausscheidungsweise der Phosphoräure vereinen. Selbst wenn auch künftige Versuche zeigen sollten, aß die Phosphorsäureausscheidung beim Hunde durch Zuckerdiurese, alzdiurese und Einwirkung von Purinderivaten nicht wesentlich eeinflußt wird, genügt doch die Tatsache, daß beim Kaninchen nter diesen Umständen konstant eine bedeutende Zunahme der hosphorsäuremenge im Harn nachgewiesen worden ist, um zu bevirken, daß sich auf Loewis Hundeversuche keine gemeingültige heorie über die Ausscheidungsweise der Phosphorsäure begründen äßt, und daß Loewis Auffassung, die Phosphorsäure werde mittels iner „echten Sekretion", von der Größe der Diurese unbeeinflußt, usgeschieden, im Gegensatz zum Chlor und zum Harnstoff, die nittels Filtration ausgeschieden würden, sich nicht aufrechterhalten äßt, ebensowenig wie eine auf diese Auffassung gestützte Annahme, laß die Phosphorsäure sich in colloider Bindung im Blute finde. Ein Vergleich der Loewischen Versuche mit den meinigen wird ibrigens vielleicht für das Verständnis der verschiedenen Resultate, u denen wir gelangten, Anhaltspunkte geben können. Nehmen vir an, daß der Hund sich mit Bezug auf die Phosphorsäureauscheidung in ähnlicher Weise verhält wie das Kaninchen, so ist es eicht zu verstehen, daß Loewi in 2 seiner 4 Versuche (VIII und X) keine Zunahme der Phosphorsäureausscheidung wahrnahm. Bei liesen Versuchen wurde die Diurese durch Injektion bedeutender Wassermengen in den Magen erzeugt, bei der Wasserdiurese fand iber auch ich gewöhnlich keine Zunahme der Phosphorsäureauscheidung.[1]) Im dritten Versuche (VII) war die Vermehrung der Diurese nach subkutaner Salzinfusion nur sehr gering, und außerlem findet sich hier während der vermehrten Diurese eine geringe Zunahme der Phosphorsäureauscheidung. Was den vierten Versuch etrifft, so wurde hier Phloridizin injiziert, das Tier wurde mit Pankreas gefüttert, und die Phosphorsäureausscheidung während der Normalperioden schwankt, wie in der Einleitung erwähnt, sehr beleutend. Es ist wohl kaum tunlich, sichere Folgerungen aus einem Versuche zu ziehen, der so große Schwankungen der normalen Phosphorsäureausscheidung darbietet, und bei welchem mehrere verchiedene Faktoren eine Rolle gespielt haben können. Bieberfeld[2])

1) Die Beweiskraft dieser Versuche, die nach einem anderen Verfahren Trinkdiurese) als die anderen Versuche Loewis angestellt wurden, hat schon Loeb angefochten (l. c.).

2) Pflügers Archiv, Bd. 112, S. 398.

hat ja nachgewiesen, daß eine Phloridizininjektion die Chlorausscheidung vermindert; unmöglich ist es nicht, daß dieser Eingriff auch auf die Phosphorsäureausscheidung einwirken könnte.

Da sich wohl kaum behaupten läßt, daß Loewis Ansicht, die Phosphorsäure finde sich im Blute in colloidaler Bindung, dem hier Angeführten zufolge irgendeinen Stützpunkt hätte, wird es mithin das Einfachste sein, anzunehmen, daß die durch Analysen im Serum nachgewiesene unorganische Phosphorsäure sich als ein gelöstes Salz vorfindet. Da der Phosphorsäuregehalt des Harns oft sehr hoch ist (so im Versuche IV 1,75 Proz.), während die prozentige Menge unorganischer Phosphorsäure im Serum ganz gering ist, vermag die Filtrationstheorie dieses Verhalten wohl kaum anders zu erklären als durch die Annahme, daß die Phosphate nur äußerst schwierig in den Harnkanälchen rückresorbiert würden, welche Annahme denn auch mit Cushnys[1]) Untersuchungen über die Phosphorsäureausscheidung nach Injektion von Phosphaten in natürlichem Zusammenhange steht. Betrachtet man aber den Versuch XVIII, so wird man sehen, daß sich während starker Diurese im Zeitraum 1 Uhr 10—1 Uhr 40 nur 0,005 Proz. PO_4, im Zeitraum 1 Uhr 40 bis 2 Uhr 10, wo die Diurese noch mehr zugenommen hat, sogar nur 0,004 Proz. PO_4 im Harn finden. Nach Abderhaldens[2]) Untersuchungen enthält das Kaninchenserum 0,0086 Proz. PO_4. Hier müßte also die Rückresorption von Phosphaten verhältnismäßig beträchtlicher als die Rückresorption von Wasser gewesen sein, wenn man annehmen will, daß letztere durch Filtration in den Glomeruli ausgeschieden werden. Daß das Resultat dadurch entstanden sein sollte, daß der Phosphorsäuregehalt des Serums sich während der starken Diurese vermindert hätte, ist als ganz unwahrscheinlich zu betrachten; man sieht nämlich, daß die Phosphorsäuremenge während der folgenden Perioden sowohl absolut als prozentig zunimmt, obgleich die Diurese stark abnimmt.

Bekanntlich hat v. Sobieranski[3]) die Theorie aufgestellt, daß das Coffeïn und verwandte Stoffe das Resorptionsvermögen der Tubuli contorti paralysierten und auf diese Weise die Diurese verursachten. Nach meinen Versuchen ist diese Anschauung, die auch von anderen Seiten[4]) stark angefochten worden ist, sehr unwahrscheinlich, was eine Betrachtung des Versuches IX erweisen wird.

1) Journal of Physiology. Bd. 27, S. 429.
2) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 25, S. 107.
3) Dieses Archiv, Bd. 35, S. 144.
4) Weber, l. c., Loeb, l. c.

Hier beträgt die Harnmenge während der Normalperioden ca. 1 ccm pro 30 Minuten, steigt aber während der Theophyllineinwirkung in der Periode 12 Uhr 45—1 Uhr 15 bis auf 14 ccm mit 0,138 Proz. PO_4. Nach Abderhalden enthält das Kaninchenserum 0,0086 Proz. PO_4 als unorganische Phosphorsäure. Der prozentige Gehalt des Harns an PO_4 ist mithin 0,138 : 0,0086 oder 16 Mal größer als der des Serums. Nimmt man an, daß die Phosphate in den Glomeruli durch Filtration von Plasma minus Eiweiß ausgeschieden werden, so müßten also während der angeführten Zeitperiode, wo die Diurese auf fast das Vierzehnfache gesteigert ist, 16 mal 14 oder 224 ccm Flüssigkeit filtriert und 210 ccm rückresorbiert worden sein, eine solche Annahme läßt sich aber nicht mit der Ansicht vereinen, daß die Theophyllindiurese auf einer Paralyse der Rückresorption beruhe.

Der Gehalt des Serums an unorganischer Phosphorsäure ist also sehr gering, und diesen Umstand hat man häufig benutzt, um Loewis Resultate zu erklären. Sowohl Weber als Loeb geraten auf den Gedankengang, es könne sich bei Polyurie unter dem Einflusse eines Diureticums um eine geringe, sehr schnell vorübergehende Steigerung der Phosphorsäure handeln. Weber meint, es werde den Nieren bei der Polyurie zu wenig Material zugeführt, als daß mehr als eine derartige minimale Steigerung entstehen könne. In meinen Versuchen ist die Steigerung keineswegs schnell vorübergehend, namentlich was die Theophyllinversuche betrifft, und die angeführte Annahme ist denn auch nicht notwendig, wenn aus den Geweben eine lebhafte Auswanderung von Phosphaten in das Serum stattfindet, je wie die Salze des letzteren mit dem Harn entfernt werden. Meine Versuche legen dar, daß diese Auswanderung sehr bedeutend ist und sehr lebhaft geschieht. Dies wird die Betrachtung des Versuches IX erweisen. Das Versuchstier wog 2690 g; wird die Blutmenge auf $^1/_{20}$ des Körpergewichtes angesetzt, so enthielt dasselbe 134,5 g Blut mit 80,7 g Serum, wenn die Serummenge des Blutes = 60 Proz. gesetzt wird. Da das Kaninchenserum (s. o.) 0,0086 Proz. PO_4 enthält, werden sich im Serum mithin 6,9 mg unorganischer Phosphorsäure finden. Da das Tier während der Normalperiode 8,7 mg PO_4 pro 30 Min. ausscheidet, wird es also im Laufe von 24 Minuten ebensoviel Phosphorsäure ausscheiden, als sich im Serum findet. Während der Periode 12 Uhr 45—1 Uhr 15 (Thephyllindiurese) werden 19,3 mg PO_4 ausgeschieden, somit 10,6 mg mehr als während der Normalperiode. Die vermehrte Ausscheidung beträgt während dieser Periode also

anderthalb Mal den PO_4-Gehalt des Serums, und während der folgenden anderthalb Stunden bleibt die Phosphorsäureausscheidung höher oder ebenso hoch wie während der Normalperiode. Dies zeigt, daß neben der vermehrten Ausscheidung eine sehr lebhafte kompensierende Einwanderung von Phosphaten in das Blut stattfinden muß, und es liegt kein Grund für die Annahme vor, daß der Phosphorsäuregehalt des Blutes während der gesteigerten Ausscheidung vermindert sei.

Schließlich betrachten wir meine Untersuchungen mit Hinblick auf die beiden streitigen Anschauungen von der Tätigkeit der Niere: die Filtrationstheorie und die Sekretionstheorie. Es scheint mir, daß meine Versuche an fast sämtlichen Punkten in scharfem Widerspruch mit der Filtrations- und Rückresorptionslehre stehen. Erstens darf Loewis Ansicht, die Menge der Phosphate im Harn verändere sich nicht wegen verschiedener Eingriffe, die eine Diurese erzeugen, wie z. B. Injektion hypertonischer Zucker- und Salzlösungen oder verschiedener Purinderivate, als endgültig widerlegt betrachtet werden, und seine Anschauung von einer colloidalen Bindung der Phosphorsäure im Serum entbehrt somit ihre Grundlage. Aber selbst wenn man annehmen wollte, daß die Phosphate sich als gelöste Salze im Serum befänden und in derselben Weise (mittels Filtration) ausgeschieden würden, wie die Chloride, die Sulfate usw. — und zu dieser Annahme wird die Filtrationstheorie wohl gezwungen, nachdem meine Versuche dargetan haben, daß beim Kaninchen durch Injektion verschiedener Diuretica konstant eine vermehrte Phosphorsäureausscheidung hervorgerufen wird — so läßt auch diese Betrachtung sich nicht mit meinen Versuchen in Einklang bringen. Der genannten Anschauung zufolge müßte nämlich der Phosphorsäuregehalt des Harns mit der Höhe der Diurese steigen und sinken. Eine Betrachtung der Versuche wird indes ergeben, daß die größte Phosphorsäureausscheidung nicht mit der größten Diurese zusammenzufallen braucht. So werden im Versuch I während der ersten 15 Minuten nach der Injektion 11 ccm Harn mit 10,0 mg PO_4, während der nächsten 15 Minuten 33,1 ccm Harn mit 5,1 mg PO_4 ausgeschieden. Man kann ferner, namentlich bei der Purindiurese, eine bedeutende Zunahme der Phosphorsäureausscheidung beobachten, bevor die Diurese in Gang gekommen oder während sie nur wenig gesteigert ist. Im Versuch XI werden z. B. während der Normalperiode in 30 Minuten 4,5 ccm Harn mit 1,8 mg PO_4 ausgeschieden. Während der ersten 30 Min.

nach der Eingabe von Theophyllin beträgt die Ausscheidung 5,9 ccm Harn mit 10,6 mg PO_4. Ein ähnliches Verhalten, wenngleich nicht mit so großen Ausschlägen, findet man in den Versuchen VI und VII. Ferner braucht die vermehrte Phosphorsäureausscheidung nicht abzunehmen, wenn die Diurese geringer wird, was der Filtrationstheorie zufolge anzunehmen wäre, sondern kann sich, wie in den Versuchen XI und XVI, fast unverändert erhalten, obschon die Diurese sehr bedeutend abnimmt, ja im Versuch XVIII wird man sogar bemerken, daß die Phosphorsäuremenge von 3 mg bis auf 7,9 mg anwächst, während die Harnmenge von 34,4 bis 7,6 ccm abnimmt. Um zu erklären, daß die Phosphate, die ja in so geringer Menge im Blute vorgefunden werden, im Harn mit so großer Konzentration auftreten können (im Versuch VI fanden sich z. B. 1,75 Proz. PO_4 im Harn), muß die Filtrations-Rückresorptionslehre wohl annehmen, daß die Phosphate nur äußerst schwierig in die Tubuli contorti rückresorbiert werden; dann wird es aber ganz unverständlich, daß ich während starker Diurese ein geringeres Prozent PO_4 im Harn gefunden habe, als sich aller Wahrscheinlichkeit nach im Blute findet (Versuch XVIII). Der gewichtigste Beweis gegen die Annahme einer Filtration als Ursache der Phosphorsäureausscheidung ist jedoch das Ergebnis der Wasserversuche. Bei der Wasserdiurese findet nämlich gewöhnlich keine Steigerung der Phosphorsäureausscheidung statt, und wo eine solche ausnahmsweise erschien, trat sie in ganz unregelmäßiger Weise auf, Dagegen fand man bei Zuckerdiurese, Salzdiurese und Diurese nach Eingabe von Purinderivaten konstant eine Vermehrung der Phosphorsäureausscheidung, die auch in Fällen erschien, wo die Wasserdiurese keine Vermehrung hervorgebracht hatte. Es scheint mir, daß folglich von einer gesteigerten Filtration als Erklärung der vermehrten Phosphorsäureausscheidung keine Rede sein kann.

Da ich mithin nicht imstande bin, meine Versuche mit der Auffassung in Übereinstimmung zu bringen, daß die Tätigkeit der Niere auf Filtration und Rückresorption beruhe, muß ich also — ebenso wie in meiner früheren Abhandlung[1]) über die Funktion der Niere — annehmen, daß die beobachteten Erscheinungen auf einer echten Drüsentätigkeit der Niere beruhen, wie es denn auch von anderen Gesichtspunkten aus von andern Untersuchern angenommen

1) Dieses Archiv, Bd. 57, S. 177.

wird, z. B. von Filehne[1]) und Asher[2]) und deren Schülern Lamy und Mayer[3]), Brodie und Cullis[4]), Weber (l. c.) und Loeb (l. c.).

Es erübrigt nun, zu untersuchen, in welche Elemente der Niere man die verschiedenen sekretorischen Vorgänge zu verlegen hat. Diese Frage läßt sich zur Zeit nicht mit Sicherheit beantworten. Die folgenden Erörterungen sind nur ein Versuch, die durch meine Experimente zu Tage getretenen Erscheinungen einfach und zwanglos zu erklären, ich bin aber völlig darüber im reinen, daß auch andere Deutungen möglich sind.

Da wir bei der Zuckerdiurese, der Salzdiurese und der Purindiurese konstant eine Vermehrung der Phosphorsäureausscheidung fanden, bei der Wasserdiurese dagegen gewöhnlich keine solche, liegt die Annahme nahe, daß diejenigen Elemente der Niere, die normal die Phosphorsäureausscheidung besorgen, bei den erstgegenannten Diureseformen zu vermehrter Tätigkeit veranlaßt wurden, bei der Wasserdiurese dagegen nicht. Was die Purindiurese betrifft, so äußerte bereits v. Schroeder[5]) die Ansicht, daß die sezernierenden Elemente der Niere durch Coffeïn zu stärkerer Tätigkeit erregt würden. Hiermit in Übereinstimmung hat man gefunden, daß durch Einwirkung verschiedener Purinderivate die festen Bestandteile des Harns, der Harnstoff, die Chloride und — wie die hier angeführten Versuche ergaben — die Phosphate zunehmen. Bei der Zucker- und der Salzdiurese werden bedeutende Mengen der genannten Stoffe dem Blute zugeführt, und es wird darauf sehr bald eine starke Ausscheidung dieser Stoffe durch die Niere stattfinden. Setzt man, wie mehrere Forscher es getan haben, diese starke Ausscheidung mit einer stark vermehrten Tätigkeit des sezernierenden Epithels in Beziehung, so wäre es ja denkbar, daß auch andere Ausscheidungsvorgänge hierdurch zu vermehrter Tätigkeit angereizt würden, wenn auch in geringerem Grade. Ferner ist es ja auch möglich, daß die durch Injektion hypertonischer Lösungen hervorgerufene Änderung des Blutes als ein Reiz auf das sezernierende Epithel wirkte.

Bei der Wasserdiurese werden wir dagegen gewöhnlich keine Vermehrung der Phosphorsäureausscheidung antreffen. Um diese

1) Pflügers Archiv Bd. 91, S. 565 u. a. a. O.

2) Biophysik. Zentralblatt, Bd. II, S. 1 u. a. a. O.

3) Journal de Physiologie et de Pathologie générale, 1904, S. 106 u. a. a. O.

4) Journal of physiology, Bd. 34, S. 224.

5) Dieses Archiv, Bd. 22, S. 54.

Erscheinung zu erklären, könnte man sich denken, daß diejenigen Elemente der Niere, deren Tätigkeit bei der Wasserdiurese gesteigert wurde, anderswo in der Niere lägen als diejenigen Elemente, die die Phosphorsäureausscheidung besorgten und die während der Wasserdiurese nicht zu vermehrter Sekretion gereizt würden. Dann wäre die Annahme die natürlichste, daß bei der Wasserdiurese Wasser oder vielleicht eine schwache Salzlösung in den Glomeruli ausgeschieden würde, wogegen die Phosphatausscheidung in ein anderes Element der Niere, am einfachsten in die Tubuli contorti, verlegt werden müßte. Wo dann die vermehrte Wasserausscheidung bei den anderen Diureseformen vorgehen sollte, darüber läßt sich nichts Bestimmtes aus den Versuchen herleiten, doch könnte man sich vielleicht durch Betrachtung der Theophyllinversuche mit Bezug auf diese eine Ansicht hierüber bilden. Bei der Betrachtung dieser Versuche wird man bemerken, daß es zwischen der Größe der Diurese und der Phosphorsäureausscheidung keinen regelmäßigen Zusammenhang gibt. So kann die Phosphorsäureausscheidung kurz nach der Eingabe von Theophyllin stark steigen, während die Diurese fast unverändert bleibt, wie im Versuch XI, wo die Phosphorsäureausscheidung bis auf das Sechsfache anwächst, die Diurese dagegen nur von 4,5 (in der Normalperiode) bis auf 5,9 ccm in 30 Minuten steigt. In vielen der Theophyllinversuche wird man ferner gewahren, daß die vermehrte Phosphorsäureausscheidung eine weit länger andauernde Erscheinung ist als die vermehrte Diurese; man kann beobachten, daß die Phosphorsäureausscheidung sich fast unverändert erhält oder sogar steigt, während die Diurese sehr stark abnimmt. Dies ist der Fall in den Versuchen X, XVI und XVII, besonders aber in den Versuchen XI und XVIII. Dieser Umstand, daß die Wasserausscheidung und die Phosphorsäureausscheidung in so hohem Maße voneinander unabhängig sind, könnte vielleicht darauf hindeuten, daß bei der Purindiurese Wasser und Phosphate an zwei verschiedenen Stellen in der Niere ausgeschieden würden (in den Glomeruli, bezw. den Tubuli contorti), die dann beide durch die Purinderivate zu vermehrter Tätigkeit gereizt würden, so zwar, daß diese vermehrte Tätigkeit sich nicht gleichzeitig mit derselben Stärke an beiden diesen Angriffspunkten geltend zu machen, auch nicht von derselben Dauer zu sein brauchte. Der Gedanke, daß die Purinderivate sowohl die Glomeruli als die Tubuli contorti beeinflussen könnten, ist nicht neu. Hellen und Spiro[1]) haben sich z. B. diese Mög-

1) Dieses Archiv, Bd. 38, S. 368.

lichkeit gedacht, um ihre Versuche mit Aloïn und Chromsäure zu erklären, welche Gifte das Nierenepithel schwer schädigen, die Coffeïndiurese dagegen nicht beeinflussen. Auch Weber (l. c.) scheint zunächst geneigt zu sein, diese Erklärung auf einen Versuch anzuwenden, in welchem durch Salz-Theophyllininjektion Diurese bei einem mit Chromsäure vergifteten Hunde erzeugt wurde.

Diesen Erwägungen, die auf Grundlage meiner Versuche erscheinen, ist nur bedingter Wert beizulegen; es ist möglich, daß fortgesetzte Untersuchungen zu anderen Deutungen der beobachteten Erscheinungen führen werden. Mein Material, bei welchem nur zwei Faktoren berücksichtigt wurden, nämlich die Höhe der Diurese und die Menge der ausgeschiedenen Phosphorsäure, ist selbstverständlich nicht dazu geeignet, die Basis eingehender Erörterungen über die Funktion der Niere zu bilden; hierzu wäre die Bestimmung einer Reihe der verschiedenen Stoffe im Harn erforderlich. Eine solche Bestimmung war bei diesen Versuchen nicht möglich, da wegen der geringen Phosphorsäuremengen die gesamte entleerte Harnmenge zur Bestimmung der Phosphorsäure benutzt werden mußte.

XIII.

Aus der medizinischen Klinik in Greifswald.
(Direktor Prof. Dr. Minkowski.)

Über die Leistungen verlagerter Pankreasstücke für die Ausnutzung der Nahrung im Darme.

Von

Dr. phil. Georg Burkhardt aus Dresden.

Die Funktion transplantierter Pankreasstücke ist schon seit Jahren Gegenstand des Interesses gewesen, mehr allerdings in bezug auf die Frage nach der Entstehung des Pankreasdiabetes als in bezug auf die Leistungen solcher Drüsenteile für die Ausnutzung der Nahrung und die gesamte Stoffwechselbilanz. Man wußte, daß ein kleines Stück der Drüse, auch wenn es ohne Zusammenhang mit dem Darm, selbst außerhalb der Bauchhöhle sich unter der Haut befindet, den nach Totalexstirpation sicher auftretenden Diabetes verhindern kann (Minkowski, Hédon u. a.). Da die Wirkung solcher transplantierter Pankreasstücke auf den Zuckerverbrauch sich unabhängig davon erwies, ob diese Drüsenstücke noch ein nach außen abfließendes Sekret zu liefern vermochten [1]), so schrieb man dem Pankreas eine doppelte Sekretion zu, eine innere, die für den Verbrauch des Zuckers im Organismus von Bedeutung ist, und eine äußere, die für die Verdauung die notwendigen Fermente liefert. Ob die beiden verschiedenen Funktionen an dieselben oder an verschiedene Gewebselemente der Drüse gebunden sind, ist vielfach Gegenstand der Diskussion gewesen. Viele Autoren neigen zu der Annahme, daß das um die Ausführungsgänge angeordnete eigentliche Drüsenparenchym nur die Verdauungssekrete liefert, während die innere Sekretion von besonderen Zellgruppen, den sogenannten „Langerhansschen Inseln“, ausgeübt wird,

1) s. Minkowski, Untersuchungen über den Diabetes mellitus nach Exstirpation des Pankreas. 1893, S. 38.

die nicht mit den Ausführungsgängen der Drüse in Verbindung stehen.[1])

Sehr bemerkenswert erschien es nun, daß nach partieller Exstirpation des Pankreas die zurückgelassenen Teile der Drüse nicht nur für den Zuckerverbrauch, sondern auch für die Resorption der Nahrung selbst dann noch eine gewisse Bedeutung zu haben schienen, wenn sich ihr Sekret nicht mehr in den Darm ergießen konnte. Wenigstens fand Abelmann[2]), der unter Minkowskis Leitung eingehende Untersuchungen über den Einfluß der Pankreasexstirpation auf die Ausnutzung der Nahrungsstoffe ausgeführt hat, daß nach partieller Exstirpation die Resorption der Nahrung, namentlich der Fette, sehr viel weniger beeinträchtigt war, als nach Totalexstirpation, obgleich nach dem Verfahren bei der Operation die zurückgelassenen Drüsenstücke nicht mehr mit dem Darm im Zusammenhang standen. Um dieses eigentümliche Verhalten zu erklären, wies Abelmann auf die Möglichkeit hin, „daß in diesen Fällen das wirksame Agens auf irgend einem andern Wege in den Darm gelangt, vielleicht durch eine vikariierende Ausscheidung desselben in den andern Darmsekreten". (Gemeint sind in den Darm sich ergießende Sekrete.)[3])

Die gleiche Beobachtung machte 15 Jahre später Pflüger, und er gab ihr eine ähnliche Deutung wie Abelmann. Pflüger schreibt[4]): „Ich habe daran gedacht, ob nicht zu der Zeit, wo der im Abdomen verbliebene, noch nicht degenerierte Pankreasrest, welcher sein Sekret in die Bauchhöhle ergießt oder in die Blutgefäße filtriert, noch sehr wesentlich bei der Darmverdauung beteiligt ist, indem das Blut die Pankreasenzyme nach der Leber trägt, welche sie mit der Galle ins Duodenum befördert."

Wenn diese Erklärung richtig war, dann konnte eine Verwertung der von dem zurückgebliebenen Pankreasstücke gelieferten Fermente für die Verdauung nur dann erwartet werden, wenn diese Drüsenteile noch wirksame Sekrete zu liefern imstande waren und diese Sekrete auf irgend einem Wege in den Darm gelangten.

1) s. Sauerbeck, Ergebnisse der Pathologie, Bd. VIII, 2, 1902 u. a.

2) Abelmann, Über die Ausnutzung der Nahrungsstoffe nach Pankreasexstirpation mit besonderer Berücksichtigung der Lehre von der Fettresorption. Inaug. Dissert. Dorpat 1890.

3) Minkowski, Bemerkungen über den Pankreasdiabetes. Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. LIII, 1905.

4) Pflüger, Ein Beitrag zur Frage nach dem Ursprung des im Pankreasdiabetes ausgeschiedenen Zuckers. Arch. f. ges. Physiol., Bd. 108, 1905.

Als eine andere Möglichkeit kam in Betracht, daß die nach der Pankreasatrophie zustande kommende Störung in der Ausnutzung der Nahrung nicht sowohl auf das Fehlen der für die Verdauung notwendigen Pankreasfermente zu beziehen ist, als auf den Ausfall einer Einwirkung, die das Pankreas auf die Tätigkeit der resorbierenden Elemente ausübt, und die mit der Wirkung derselben auf die zuckerkonsumierenden Organe auf eine Stufe zu stellen wäre, wie das Minkowski[1]) schon 1890 ausgesprochen hat.

Eine dieser letzteren ähnliche Annahme hat Lombroso[2]) gemacht, indem er auf Grund seiner Untersuchungen zu dem Schlusse kam, daß „die Störung der Nährstoffresorption infolge der Pankreasatrophie nicht nur durch die Abwesenheit der äußeren Pankreassekrete, sondern hauptsächlich durch das Fehlen einer anderen Pankreasfunktion bedingt ist."

Lombroso stützt sich hauptsächlich auf Beobachtungen, die ihm ergeben hatten, daß die Nährstoffresorption nach der Unterbindung und Durchschneidung der zwei Pankreasausführungsgänge beim Hund wenig gestört war, während sie nach der Totalexstirpation des Pankreas sehr schwer beeinträchtigt wurde.

Auffallend war es, daß Lombroso bei seinen Unterbindungen nicht die Sklerose des Pankreas beobachtet hat, wie sie nach diesem Eingriffe in der Regel zustande zu kommen pflegt.

Vor kurzem hat aber Hess[3]) eine sehr einfache Erklärung für die auffallende Angabe von Lombroso gegeben. Hess und sein Schüler Sinn[4]) zeigten, daß das Pankreas der Hunde drei und mehr Ausführungsgänge besitzt, und „daß es trotz sorgfältigster Operation und auch bei Kenntnis der Tatsache, daß das Pankreas mehr als zwei Ausführungsgänge besitzen kann, nur in wenigen Fällen gelingt, alle Gänge zu unterbinden und damit einen völligen Abschluß des Pankreassekrets vom Darm zu erreichen."

Die unvollständige Unterbindung der nach dem Darm führenden Ausführungsgänge erklärt auch die negativen Resultate, die Lombroso bei solchen Hunden erhielt, bei welchen der Pankreassaft durch

---

1) Minkowski, Zur Lehre von der Fettresorption. Berl. klin. Wochenschr. 1890, Nr. 15.

2) Lombroso, Über die Beziehungen zwischen der Nährstoffresorption und den enzymatischen Verhältnissen im Verdauungskanal. Pflügers Archiv, Bd. 112, 1906.

3) Hess, Die Ausführungsgänge des Hundepankreas. Pflügers Archiv, 1907, Bd. 118.

4) Sinn, Der Einfluß experimenteller Pankreasgangunterbindungen auf die Nahrungsresorption. Inaug. Diss. Marburg 1907.

eine Pawlowsche Dauerfistel nach außen geleitet wurde. Auch hier konnte noch Pankreassekret durch die nicht unterbundenen Nebengänge in den Darm geflossen sein, ganz abgesehen davon, daß die Tiere das Fistelsekret auflecken konnten, was, wie wir sehen werden, sehr wesentlich ist.

Lombroso hat auch einige Versuche an Tieren mit unter die Haut transplantierten Pankreasstücken ausgeführt. Er erhielt ähnliche Resultate, wie sie Abelmann nach partieller Exstirpation erhalten hatte, wenn die zurückgelassenen Stücke nicht mit dem Darm in Verbindung standen. Und in der Tat unterschied sich seine Versuchsanordnung in diesen Fällen gar nicht wesentlich von der Abelmannschen, da auch das Sekret der von Lombroso transplantierten Stücke offenbar nicht nach außen abfließen konnte, und dieselbe Deutung für die Versuche in Frage kam, wie sie von Abelmann vermutungsweise ausgesprochen war.

Lombroso versuchte die Frage, ob nach der Absperrung des Pankreassaftes vom Darm die enzymatische Wirkung der übrigen Verdauungssäfte sich ändere, durch direkte Untersuchung dieser Säfte, des Speichels, der Galle, besonders aber des Darmsaftes aus Vellaschen Fisteln, zu entscheiden. Aber auch hier kann die unvollständige Unterbindung der Ausführungsgänge für die Erklärung der im wesentlichen negativen Resultate herangezogen werden. Besonders bemerkenswert muß es auch erscheinen, daß eine erhebliche Steigerung der amylolytischen und lipolytischen [1]) Wirkung des Darmsaftes gerade in dem einzigen Falle zu verzeichnen war, in dem ein Pankreasstück unter die Bauchhaut verpflanzt war. Da Lombroso nicht erwähnt, daß das Sekret dieses Drüsenstückes nach außen abfließen konnte, so ist wohl anzunehmen, daß dies nicht der Fall war, und daß somit das Sekret zur Resorption gelangen konnte.

Für die Beurteilung der Rolle solcher mit dem Darm nicht mehr kommunizierender Pankreasteile erschien es von besonderem Interesse, Untersuchungen an Tieren anzustellen, die nur noch ein unter die Bauchhaut verlagertes Drüsenstück besaßen, dessen Sekret aber durch eine Fistel nach außen abfließen konnte.

Schon die einfache Beobachtung solcher Tiere und das Aussehen ihrer Entleerungen ließen erkennen, daß die Ausnutzung ihrer

1) Übrigens darf wohl darauf hingewiesen werden, daß Fettspaltung und Fettresorption nicht identisch sind!

ahrung keine allzuschlechte war. Doch pflegen solche Tiere das ıs der Fistel ausfließende Sekret sehr eifrig aufzulecken, und es war aher möglich, daß sie auf dem Umwege per os nach dem Darm ieses Sekret noch zu verwerten imstande waren. Wenigstens war ı nach den Untersuchungen von Abelmann, die von Sandmeyer[1]) édon, Capparelli und anderen bestätigt wurden, bekannt, daß e Verfütterung von rohem Pankreas die Ausnutzung der Nahrung ach der Pankearsexstirpation sehr zu verbessern vermag.

So ergab sich denn die Aufgabe, zu untersuchen: 1. ob das von ansplantierten Drüsenstücken gelieferte Sekret wirksame Fermente ıthielt, eventuell wieweit die Beschaffenheit der Sekrete durch die ısammensetzung der Nahrung und sonstige Umstände modifiziert erden könnte. 2. die Bedeutung der Sekrete für den Organismus ıdurch zu prüfen, daß man die Ausnutzung der Nahrung bei freiem bfluß des Sekretes, wenn das Tier imstande war, es aufzulecken ıd wenn es daran verhindert wurde, und schließlich bei mechanischer auung dieses Sekretes mit einander verglich.

Zu diesem Zwecke stellte mir Herr Professor Minkowski ıen Hund zur Verfügung, dem er den größten Teil der Baucheicheldrüse, nämlich corpus und processus lienalis[2]), exstirpiert ıd den größten Teil des processus uncinatus unter die Bauchhaut ırpflanzt hatte.

Meine Versuche wurden unabhängig von den Untersuchungen ombrosos schon vor dem Erscheinen seiner Veröffentlichung[3]) ısgeführt, die Publikation meiner Arbeit verzögerte sich aber aus ıßeren Gründen.

Die Operation wurde von Herrn Professor Minkowski an einem aunen Teckelbastard von 8550 g Gewicht in zwei Zeiten ausgeführt. m 28. X. 05 verlagerte er zunächst den processus uncinatus unter e Bauchhaut. Er machte zu diesem Zwecke einen Hautschnitt am teralen Rande des rechtem M. rectus. Die M. M. obliqui und der ansversus wurden stumpf in der Richtung ihres Faserverlaufs durchennt und das Peritoneum eröffnet. Nun wurde die pars descendeus ıodeni in die Wunde gezogen und die Stelle aufgesucht, wo der proıssus uncinatus pancreatis sich vom Darme entfernt. Da die Besichgung ergab, daß die Gefäßversorgung dieses Drüsenteils eine normale

1) Sandmeyer, Über die Folgen der partiellen Pankreasexstirpation im Hunde. Zeitschr. f. Biol. 1904.

2) Zur Nomenklatur s. Pflüger, Untersuchung über den Pankreasdiabetes. lügers Archiv, Bd. 118, 1907.

3) Lombroso, Über die Beziehungen zwischen Nährstoffresorption usw., oben.

eine Pawlowsche Dauerfistel nach außen geleitet wurde. Auch hier konnte noch Pankreassekret durch die nicht unterbundenen Nebengänge in den Darm geflossen sein, ganz abgesehen davon, daß die Tiere das Fistelsekret auflecken konnten, was, wie wir sehen werden, sehr wesentlich ist.

Lombroso hat auch einige Versuche an Tieren mit unter die Haut transplantierten Pankreasstücken ausgeführt. Er erhielt ähnliche Resultate, wie sie Abelmann nach partieller Exstirpation erhalten hatte, wenn die zurückgelassenen Stücke nicht mit dem Darm in Verbindung standen. Und in der Tat unterschied sich seine Versuchsanordnung in diesen Fällen gar nicht wesentlich von der Abelmannschen, da auch das Sekret der von Lombroso transplantierten Stücke offenbar nicht nach außen abfließen konnte, und dieselbe Deutung für die Versuche in Frage kam, wie sie von Abelmann vermutungsweise ausgesprochen war.

Lombroso versuchte die Frage, ob nach der Absperrung des Pankreassaftes vom Darm die enzymatische Wirkung der übrigen Verdauungssäfte sich ändere, durch direkte Untersuchung dieser Säfte, des Speichels, der Galle, besonders aber des Darmsaftes aus Vellaschen Fisteln, zu entscheiden. Aber auch hier kann die unvollständige Unterbindung der Ausführungsgänge für die Erklärung der im wesentlichen negativen Resultate herangezogen werden. Besonders bemerkenswert muß es auch erscheinen, daß eine erhebliche Steigerung der amylolytischen und lipolytischen [1]) Wirkung des Darmsaftes gerade in dem einzigen Falle zu verzeichnen war, in dem ein Pankreasstück unter die Bauchhaut verpflanzt war. Da Lombroso nicht erwähnt, daß das Sekret dieses Drüsenstückes nach außen abfließen konnte, so ist wohl anzunehmen, daß dies nicht der Fall war, und daß somit das Sekret zur Resorption gelangen konnte.

Für die Beurteilung der Rolle solcher mit dem Darm nicht mehr kommunizierender Pankreasteile erschien es von besonderem Interesse, Untersuchungen an Tieren anzustellen, die nur noch ein unter die Bauchhaut verlagertes Drüsenstück besaßen, dessen Sekret aber durch eine Fistel nach außen abfließen konnte.

Schon die einfache Beobachtung solcher Tiere und das Aussehen ihrer Entleerungen ließen erkennen, daß die Ausnutzung ihrer

---

1) Übrigens darf wohl darauf hingewiesen werden, daß Fettspaltung und Fettresorption nicht identisch sind!

Nahrung keine allzuschlechte war. Doch pflegen solche Tiere das ıus der Fistel ausfließende Sekret sehr eifrig aufzulecken, und es war laher möglich, daß sie auf dem Umwege per os nach dem Darm lieses Sekret noch zu verwerten imstande waren. Wenigstens war es nach den Untersuchungen von Abelmann, die von Sandmeyer[1]) Hédon, Capparelli und anderen bestätigt wurden, bekannt, daß lie Verfütterung von rohem Pankreas die Ausnutzung der Nahrung ıach der Pankearsexstirpation sehr zu verbessern vermag.

So ergab sich denn die Aufgabe, zu untersuchen: 1. ob das von ransplantierten Drüsenstücken gelieferte Sekret wirksame Fermente nthielt, eventuell wieweit die Beschaffenheit der Sekrete durch die Zusammensetzung der Nahrung und sonstige Umstände modifiziert werden könnte. 2. die Bedeutung der Sekrete für den Organismus ladurch zu prüfen, daß man die Ausnutzung der Nahrung bei freiem Abfluß des Sekretes, wenn das Tier imstande war, es aufzulecken .nd wenn es daran verhindert wurde, und schließlich bei mechanischer Stauung dieses Sekretes mit einander verglich.

Zu diesem Zwecke stellte mir Herr Professor Minkowski einen Hund zur Verfügung, dem er den größten Teil der Bauchpeicheldrüse, nämlich corpus und processus lienalis[2]), exstirpiert ınd den größten Teil des processus uncinatus unter die Bauchhaut verpflanzt hatte.

Meine Versuche wurden unabhängig von den Untersuchungen Lombrosos schon vor dem Erscheinen seiner Veröffentlichung[3]) ausgeführt, die Publikation meiner Arbeit verzögerte sich aber aus äußeren Gründen.

Die Operation wurde von Herrn Professor Minkowski an einem braunen Teckelbastard von 8550 g Gewicht in zwei Zeiten ausgeführt. Am 28. X. 05 verlagerte er zunächst den processus uncinatus unter die Bauchhaut. Er machte zu diesem Zwecke einen Hautschnitt am lateralen Rande des rechtem M. rectus. Die M. M. obliqui und der transversus wurden stumpf in der Richtung ihres Faserverlaufs durchtrennt und das Peritoneum eröffnet. Nun wurde die pars descendeus duodeni in die Wunde gezogen und die Stelle aufgesucht, wo der processus uncinatus pancreatis sich vom Darme entfernt. Da die Besichtigung ergab, daß die Gefäßversorgung dieses Drüsenteils eine normale

1) Sandmeyer, Über die Folgen der partiellen Pankreasexstirpation beim Hunde. Zeitschr. f. Biol. 1904.

2) Zur Nomenklatur s. Pflüger, Untersuchung über den Pankreasdiabetes. Pflügers Archiv, Bd. 118, 1907.

3) Lombroso, Über die Beziehungen zwischen Nährstoffresorption usw., . oben.

war, konnte es am Darm reseziert und nach Durchtrennung des Mesentriums, ohne den langen Gefäßstiel zu sehr zu zerren, aus der Bauchhöhle herausgeführt werden. Nun wurde das Duodenum mit dem Pankreasrest in seine normale Lage zurückgebracht, die Peritoneal-, Muskel- und Fascienwunde durch Seidennähte unter dem herausgezogenen Pankreasstück geschlossen und dieses in eine Hauttausche, zwischen Fascie und Bauchhaut verlagert. Das Schnittende des verlagerten Pankreasstückes wurde durch einen Schlitz in die Bauchhaut nach außen geführt und an dem Schlitzrand fixiert, sodaß eine Sekretion dieses Stückes nach außen erfolgen konnte.

Das Tier erholte sich bald von der Operation und kam wieder auf sein altes Gewicht. Am 26. XII. 05 konnte das in der Bauchhöhle restierende Pankreasstück, corpus und processus lienalis entfernt werden. Auch nach diesem Eingriff erholte sich der Hund bald. Nach der zweiten Operation trat vorübergehend Glykosurie auf. Dann blieb der Hund 3/4 Jahr lang zuckerfrei und wurde erst nach der am 17. Oktober 1906 vorgenommenen Entfernung des verlagerten Pankreasstückes diabetisch. Der Hund wurde dann zu anderen Beobachtungen verwendet.

Bei diesem Tiere untersuchte ich nun zunächst das aus der Fistel fließende Sekret auf seinen Gehalt an Verdauungsfermenten.

Zu diesem Zwecke wurde der Hund am 31. I. 06 zwölf Stunden lang im Hungerzustande in eine Hängevorrichtung gebracht, die aus Hosen von Sackleinen und Gurten bestand und eine mäßige Bewegungsfreiheit zuließ, und das Sekret vermittels eines luftdicht über dem Fistelausgang befestigten Glastrichters aufgefangen.

Es wurden in 9 Stunden 15,5 ccm eines farblosen, nur ganz leicht getrübten Sekrets entleert. Die Reaktion war alkalisch; ein Tropfen zehntelnormal Schwefelsäure genügte reichlich zur Neutralisation eines Kubikcentimeters Sekret. Die Trockensubstanz betrug im Mittel 1,57 Proz.

Ich suchte mich jetzt zunächst davon zu überzeugen, ob in dem aufgefangenen Fistelsekret präformierte aktive Fermente enthalten waren.

Die Anwesenheit eines diastatischen Ferments war an der sofort eintretenden Sacharifizierung einer 3 prozentigen Stärkelösung zu erkennen. Genauere Untersuchungen über die Intensität der Diastasewirkung habe ich nicht angestellt, da sie mir im Hinblick darauf, daß auch nach vollständiger Pankreasexstirpation noch die diastatischen Fermente der Speicheldrüse zur Verfügung stehen, für die späteren Versuche über die Ausnutzung die Nahrung weniger wesentlich schienen [1].

1) s. N. Hess, Ein Beitrag zur Lehre von der Verdauung und Resorption der Kohlehydrate. Dissertation Straßburg. 1892.

Die Prüfung der Eiweißverdauung ergab, daß von einer Fibrinlocke nach zwei Stunden nichts, nach sechs Stunden ein geringer Teil, ıach 24 Stunden ca. die Hälfte verdaut war, als man sie mit 1 ccm lekret im Brutschrank digerierte. Es war demnach nur eine zweifel.afte oder höchstens ganz schwache Wirkung präformierten Trypsins ıachweisbar.

Zur Prüfung der Fettspaltung wurden sterile Kölbchen mit je 0 ccm des feinsten käuflichen Olivenöls benutzt. Die zur Neutralisation gebrauchten Kubikcentimeter zehntelnormal Kalilauge dienten als 'ergleichswerte.

Kölbchen I	ohne Zusatz von Fistelsekret sofort titriert, verbraucht	4,55 ccm
Kölbchen II	ohne Zusatz von Fistelsekret, 24 Stunden im Brutschrank digeriert und dann titriert	4,7 „
„ III	mit 1 ccm Fistelsekret 24 Stunden im Brutschrank digeriert und dann titriert	6,6 „
„ IV	ebenso	7,05 „

Auch am Steapsinversuch fiel die geringe Fermentkraft auf.

Eine genauere Beobachtung über den Verlauf der Sekretion ;ellte ich am 9.—11. IV. 06 gelegentlich eines Stoffwechselversuchs n, der am hängenden Tiere vorgenommen wurde.

Am ersten Tage wurde das durch den Trichter in ein steriles .ölbchen abfließende Fistelsekret zweistündlich gemessen und sofort ıf seinen Gehalt an Trockensubstanz untersucht. 3/4 8 Uhr früh beam der Hund 600 g Pferdefleisch, 20 g Butter und 500 g Wasser; ›n 8 Uhr ab befand er sich in der Hängevorrichtung.

8—10 Uhr	: 7,60	ccm P.S. mit	1,546	Proz. Trokensubstanz
10—12 „	: 4,95	„	1,608	„ „
12—2 „	: 4,0	„	2,080	„ „
2—4 „	: 3,75	„	2,127	„ „
4—6 „	: 3,5	„	1,933	„ „

Damit war das Fistelsekret an Menge und Trockensubstanz wieder ıf den Hungerzustand angelangt, wie ein Versuch ergeben hatte. Am ächsten Morgen wurden von 7—9 Uhr noch 3,0 ccm Pankreassaft mit ,650 Proz. Trockensubstanz sezerniert

Da nach den Untersuchungen von Pawlow anzunehmen war, aß die Fermente in dem direkt aus der Fistel fließenden Sekret icht in aktiver Form enthalten sein konnten, suchte ich die ntensität der Fermentwirkung nach Aktivierung durch Darmreßsaft festzustellen, der von einem frisch getöteten Hunde durch

Abschaben von Dünndarmschleimhaut, Verreiben mit physiologischer Kochsalzlösung und Centrifugieren gewonnen war.

Unser Versuchshund hing zunächst im Hungerzustand von 8—9 Uhr. Die Menge des Sekrets, 1,5 ccm, stimmt zu den Ergebnissen früherer Versuche.

Um 9 Uhr bekam der Hund wieder 600 g Fleisch, 20 g Butter und 500 g Wasser. Sofort stieg die innerhalb zweier Stunden sezernierte Pankreasflüssigkeit wieder auf 7,5 ccm.

Die Untersuchung der Fermentwirkung ergab:

1. Steapsin-Wirkung.

Kölbchen	a.	10 ccm Öl	ohne P.S. 30 Min. im Brutschrank verbauchen	2,2 ccm
„	b.	„ „	mit 0,5 ccm P.S. 30 Min. im Brutschrank	5,5 „
„	c.	„ „	mit 0,5 ccm P.S. und 0,5 Darmpreßsaft n. 30 Min.	5,15 „
„	d.	„ „	mit 1,0 ccm P.S. und 0,5 ccm Darmpreßsaft nach 30 Min.	12,55 „

2. Trypsin-Wirkung.

Eine Flocke Fibrin mit 1 ccm P.S. im Brutschrank digeriert war nach 1½ Stunden völlig gelöst. Weiter wurde die Eiweißverdauung an den bekannten Mett-Röhrchen beobachtet und die Länge des gelösten Eiweißstückes mit schwacher Vergrößerung abgelesen.1)

a.	Mett-Röhrchen	mit aqu. dest. ohne P.S. 20 St. im Brutschrank digeriert	nichts verdaut
b.	„	mit 1 ccm P.S. 20 St.	nichts verdaut
c.	„	mit 1 ccm P.S. und 0,1 ccm Darmpreßsaft 20 St. digeriert	2,5 mm verdaut
d.	„	mit 1 ccm P.S. und 0,5 Darmsaft 20 St. digeriert	4,5 mm „

3. Die Diastasewirkung zeigte sich durch sofort eintretende positive Zuckerreaktion (Trommer), wenn man eine 3%ige Stärkelösung mit dem Pankreassaft mit oder ohne Darmpreßsaft versetzte.

Am 27. April wurde noch ein Verdauungsversuch unternommen, der den Einfluß sauren Magensaftes auf die verdauende Kraft der Pankreasfermente zeigen sollte.

---

1) Die von Gross in diesem Bande S. 157 mitgeteilte Methode zur Messung der Trypsinwirkung stand uns damals noch nicht zur Verfügung.

Der Magensaft wurde in der Weise gewonnen, daß der Hund Fleisch und Wasser bekam. und nach einer Stunde der Magen ausgehebert wurde. Der Inhalt wurde sauer gegen Lackmus befunden und filtriert.

1. Steapsin-Wirkung

Kontrollkölbchen a)	nach $1^1/_2$ St. im Brutschrank titriert verbraucht	2,8 ccm
Kölbchen b)	mit 0,5 ccm P.S. nach $1^1/_2$ St. im Brutschrank titriert	4,0 „
„ c)	mit 0,5 ccm P.S. und 0,5 ccm saurem Magensaft nach $1^1/_2$ St. titriert	4,7 „

2. Trypsin-Wirkung.

a) Mettröhrchen	mit je 0,5 ccm P.S. und Magensaft 3 St. digeriert	2,0 mm verdaut
	dasselbe nach 3 St. alkalisiert, mit 0,5 ccm alkalischem Darmpreßsaft nach 7 St.	4,5 mm verdaut.

Diese Verdauungsversuche zeigten, daß das Fistelsekret des transplantierten Pankreasstückes sämtliche Verdauungsfermente enthielt. Das tryptische wird durch Darmpreßsaft aktiviert, und in seiner Wirkung verstärkt. Zusatz von saurem Magensaft hat die verdauende Kraft der Pankreasfermente nicht aufgehoben.

Demnach war es durchaus wahrscheinlich, daß das aufgeleckte Sekret für die Ausnutzung der Nahrung im Darm von Wirkung sein konnte.

Um nun die Ausnutzung der Nahrung unter den verschiedenen oben genannten Bedingungen zu prüfen, wurden folgende Untersuchungen ausgeführt.

Die I. Versuchsreihe umfaßte zwei Stoffwechselperiode von je zwei Tagen in unmittelbarer Folge.

a) Der Hund war am 30. und 31. I. 1906 frei in seinem Käfig, erhielt pro Tag 500 g magerstes Pferdefleisch, dessen Gehalt an N. und Fett bei mehrfachen Analysen nur unerheblich schwankte 20 g frische Butter und 500 g Wasser. Zur Abgrenzung des Kotes wurde, wie auch bei den späteren Versuchen der ersten und letzten Fleischportion jeder neuen Periode Karmin zugesetzt. Der Hund leckte eifrig seine Fistel.

Die Fleischanalyse ergab 3,3317 Proz. Stickstoff und 2,51 Proz. Fett.

Die Butteranalyse ergab 0,7 Proz. Stickstoff und 85,16 Proz. Fett im Mittel.

Gesamtstickstoff der Nahrung demnach:	33,597 g
Gesamtfettgehalt:	59,06 g
Gesamttrockenkot:	50 g
Kotstickstoff:	4,45 g
Kotfett:	11,91 g
darnach wurden ausgenutzt: Stickstoff:	**86,46** Proz.
Fett:	**79,83** Proz.

Der N.-gehalt des Gesamturins betrug während der beiden Tage 27,9 g N., es fand also Stickstoffretention von 1,247 g statt. Im Urin war weder Zucker noch Aceton.

b) Der Hund hängt am 1. und 2. II. tagsüber in der Schlinge und war dadurch am Lecken der Fistel verhindert, nachts war er frei. Er bekommt morgens dieselbe Nahrung wie unter a). Das Fistelsekret wurde aufgefangen und verarbeitet.

Verfütterter Stickstoff:	33,597 g
Verfüttertes Fett:	59,06 g
Gesamttrockenkot:	195 g
Kotstickstoff:	18,1 g
Kotfett:	51,38 g

Demnach wurden ausgenützt:

Stickstoff: **46,1** Proz.
Fett: **13,0** Proz.

Der Gesamturin beider Tage enthielt 17,73 g N. Es wurden demnach 2,23 g N mehr ausgeschieden als aufgenommen.

Zusammenstellung der Resultate des ersten Versuchs:

Eiweißausnutzung bei a) 86,46 Proz., bei b) 46,1 Proz.
Fett „ „ a) 79,83 Proz., „ b) 13,0 Proz.

Der nächste Versuch wurde an demselben Hunde erst nach fünf Wochen angestellt.

Diese II. Versuchsreihe umfaßte in unmittelbarer Folge zwei Stoffwechselperioden von je drei Tagen. In der ersten war der Hund wie vorher frei in seinem Käfig und durfte seine Fistel lecken; in der zweiten war diese durch einen Kompressiverband verschlossen.

a) vom 9. bis 11. März 1906. Der Hund ist frei in seinem Käfig. Er erhält pro Tag 500 g Wasser, 20 g Butter und 500 g magerstes Pferdefleisch, am dritten Tag durch ein Versehen 170 g mehr, im ganzen während der drei Tage also 1670 g.

Das sind an Gesamtstickstoff:	55,03 g
an Gesamtfett:	92,75 g

Der Kot wird mit Karmin abgegrenzt.

Gesamttrockenkot:	160 g
Kotstickstoff:	16,26 g
Kotfett:	27,04 g

Demnach ausgenutztes Eiweiß: 70,97 Proz.
ausgenutztes Fett: 70,85 Proz.

Der Urin der drei Tage betrug 41,25 g. Es wurde also 1,48 g N mehr ausgeschieden als aufgenommen.

b) Der Hund ist vom 12. bis 14. III. verbunden; er erhält im ganzen 1800 g Fleisch, 60 g frische Butter und 800 g Wasser.

Nahrungsstickstoff:	60,36 g
Nahrungsfett:	96,03 g
Gesamttrockenkot:	210 g
Kotstickstoff:	22,46 g
Kotfett:	30,51 g

Demnach wurden ausgenutzt

vom Eiweiß:	62,52 Proz.
vom Fett:	68,29 Proz.

Der Stickstoff des Gesamturins betrug 36,98 g,
demnach fand Retention statt von 0,92 g N.

Der Unterschied in der Ausnutzung zwischen der Leck- und der Verbandperiode ist also ganz wesentlich geringer als der zwischen Leck- und Hängeperiode. Für jene beträgt er:

8,40 Proz. (Eiweiß) und 2,36 Proz. (Fett),
für diese 40,36 „ „ 66,83 „ „

Da bei der zweiten Leckperiode die Ausnutzung schlechter war und zwar um 15,49 Proz. für Eiweiß und 9 Proz. für Fette, so scheint die Funktion des Pankreasstückes sich etwas verschlechtert zu haben, Um so bemerkenswerter ist es, daß nach der Stauung des Sekrets die Ausnutzung besser ist, als bei dem Auffangen des Saftes.

Bis zur III. Versuchsreihe, die 10 Wochen nach der ersten angestellt wurde, war die Funktion des verlagerten Drüsenstückes offenbar noch mehr beeinträchtigt, namentlich in bezug auf die Produktion des tryptischen Ferments. Die Fistel war oft verstopft und mußte durch Sondierung geöffnet werden.

a) 6. bis 8. IV. 06. Der Hund ist frei in seinem Käfig, leckt, wenn auch nur gelegentlich, das weniger reichlich fließende Fistelsekret und erhält als Nahrung insgesamt 1800 g rohes Pferdefleisch, 60 g frische Butter und 1500 g Wasser,

d. i. an Stickstoff:	60,36 g
an Fett:	96,11 g

Der Gesamttrockenkot betrug: 207 g.
Kotstickstoff: 20,85 g
Kotfett: 34,56 g
Demnach wurden ausgenutzt
Stickstoff: 44,7 Proz.
Fett: 64,0 Proz.

Der Stickstoffgehalt des Gesamturins betrug 37,73 g.

Es fand Retention statt von 1,78 g N. Im Urin war weder Zucker noch Aceton nachzuweisen.

b) 9. bis 11. IV. Der Hund hängt tagsüber in der Schlinge. Das Fistelsekret wird aufgefangen. Es floß nur spärlich; innerhalb 9 St. nur 7,0 ccm gegen 15,5 beim ersten Versuch Nahrung wie unter a).

Gesamttrockenkot: 195 g
Kotstickstoff: 21,1 g
Kotfett 36,84 g
Demnach ausgenutzt
vom Stickstoff = 35 Proz.
vom Fett = 61,66 Proz.

Der Stickstoff des Gesamturins betrug 32,17 g.

Es fand Retention von 7,18 g N. statt. Im Urin war weder Zucker noch Aceton nachzuweisen.

Zusammenstellung der Resultate der III. Versuchsreihe:
Eiweißausnutzung: a) 44,7 Proz., b) 35 Proz.
Fettausnutzung: b) 64,0 Proz., b) 61,16 Proz.

Sehen wir zunächst von den Ergebnissen der III. Versuchsreihe ab, die ein paar Monate nach der ersten gewonnen wurden, und bei denen die Sekretion der Fistel erheblich nachgelassen hatte, so zeigt sich im ganzen,

daß die Resorption der Fette wie der Eiweißstoffe nur sehr wenig beeinträchtigt war, solange der Hund das Sekret der Fistel nach Belieben auflecken konnte,

daß sie am meisten gestört war, wenn der Saft aufgefangen und so dem Organismus ganz entzogen wurde,

daß aber etwas besser als in letzterem Falle die Resorption, namentlich der Fette war, wenn man den Abfluß durch Kompressivverband erschwerte. Es legte dies den Gedanken nahe, daß es im letzteren Falle durch die Stauung zu einer teilweisen Resorption des Sekretes kam, welches dann doch noch irgendwie für den Organismus verwertet wurde.

Daß bei der III. Versuchsreihe die Differenz zwischen der Leck- und Hängeperiode geringer war, ist wohl darauf zu beziehen, daß durch die wiederholten Störungen im Abfluß des Sekretes der abfließende Saft an Wirksamkeit eingebüßt hatte. Einerseits war dadurch der aufgeleckte Saft von geringerem Werte für die Verdauung

der Nahrungsstoffe, andererseits kam vielleicht auch schon während der Hängeperiode infolge des erschwerten Abflusses eine gewisse Resorption der Pankreasfermente zustande: daher wahrscheinlich die schlechtere Ausnutzung während der Leckperiode und eine relativ bessere während der Hängeperiode.

Besonders drängt sich eine solche Deutung auf, wenn wir die Resultate unserer Versuche mit denen von Abelmann zusammenstellen:

	Ausnutzung			
1. Normaler Hund	bis 98 Proz.	Eiweiß	96 Proz.	Fett
2. Hund mit verlagertem Pankreasstück mit Fistel zur Zeit eifrigsten Leckens:	86 Proz.	„	79 Proz.	„
3. Bei verlagertem Pankreasstück mit verbundener Fistel	62 Proz.	„	68 Proz.	„
4. Bei partieller Pankreasresektion ohne Fistel nach Abelmann:	54 Proz.	„	40 Proz.	„
5. Bei verlagertem Pankreasstück mit Fistel, das Sekret während der Hängeperiode aufgefangen	46 Proz.	„	13 Proz.	„
6. Bei Totalexstirpation nach Abelmann:	44 Proz.	„	0 Proz.	„

Wir sehen daraus, daß die Ausnutzung nur wenig schlechter als in der Norm ist, solange der Saft aufgeleckt wurde,

daß sie nur wenig besser als nach Totalexstirpation, wenn der Saft aufgefangen und dem Körper entzogen wird, und

daß nach Anlegen des Kompressivverbandes die Ausnutzung noch etwas besser ist als nach partieller Exstirpation mit Zurücklassung eines abgebundenen Stückes. Vielleicht ist dieses letztere so zu erklären, daß bei der partiellen Exstirpation nach Abelmann die abgebundenen Stücke allmählich sklerosierten, während in unserem Falle das transplantierte Stück, solange Abfluß möglich war, gut funktionierte, daher bei plötzlich einsetzender Stauung ein besseres Sekretionsprodukt zur Resorption gelangen konnte.

Bemerkenswert ist auch in diesem Falle, in welchem das Sekret nach außen abfließen konnte, daß sich ein Diabetes auch nach $^3/_4$ Jahren noch nicht eingestellt hatte, obwohl nur ein kleiner Teil der Drüse zurückgeblieben war. Die Störung der Nahrungsresorption erwies sich auch hier unabhängig von dem Auftreten einer Glykosurie.

Auf welche Weise der Organismus die von dem verlagerten Drüsenstücke gelieferten Sekrete verwendet, darüber sind verschiedene Hypothesen möglich. Man könnte daran denken, daß die Fermente anderswo gebildet werden, und daß das Pankreas nur

Exkretionsorgan ist. Dagegen spricht aber der Umstand, daß die Ausnutzung der Nahrung nach der Totalexstirpation des Pankreas am schlechtesten ist. Es ist daher wahrscheinlicher, daß die Fermente erst im Pankreas gebildet werden, und entweder auf dem Lymphwege in den Darm gelangen oder durch das Blut resorbiert und mit der Galle oder dem Darmsaft dem Darme zugeführt werden.

Jedenfalls aber sprechen die hier mitgeteilten Beobachtungen dafür, daß es nicht etwa irgend eine innere Funktion des Pankreas ist, durch welche die Tätigkeit der resorbierenden Elemente beeinflußt wird, sondern daß die Leistungen der Bauchspeicheldrüse für die Resorption der Eiweißstoffe und Fette einzig und allein auf der Produktion des äußeren Sekretes beruhen, mag dieses direkt oder indirekt dem Darm zugeführt werden.

Ich bin mir der Unvollständigkeit dieser Arbeit bewußt. Leider aber machen mir äußere Verhältnisse die Fortsetzung der Versuche zur Zeit unmöglich, und so glaubte ich durch die besondere Versuchsanordnung und die erhaltenen Resultate zu einer Veröffentlichung berechtigt zu sein.

XIV.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Leipzig.

Über Wirkungen von Ammoniumbasen und Alkaloiden auf den Skelettmuskel.

Von

R. Boehm.

(Mit 4 Kurven).

I.

An vom Lymphsack aus mit Muscarinchlorid vergifteten Esculenten beobachtete ich, daß mit der indirekten häufig auch die direkte Reizbarkeit des Muskels mehr oder weniger vollständig aufgehoben ist. Es zeigte sich, daß diese „Muskelwirkung“ im Winter in ca. 50 Proz., im Frühjahr und Sommer nur in vereinzelten Fällen auftritt; bei Temporarien habe ich sie bis jetzt niemals gesehen.

Obwohl es sich sonach um eine inkonstante Erscheinung handelt, habe ich die Sache dennoch etwas weiter verfolgt.

Ich konnte keinen Umstand ausfindig machen, von welchem das Eintreten oder Ausbleiben der Wirkung abhängig ist. Die Höhe der Dosis ist ziemlich gleichgültig. Die kleinsten eben noch maximal wirkenden Giftmengen (maximal hinsichtlich der Nervenendwirkung) können auch schon die maximale Muskelwirkung hervorrufen. Auch der Applikationsmodus ist ohne Belang. Nach intravenöser Injektion (in die rechte Vena cutanea magna, in die man bequem kleine Kanülen einbinden kann), ist die Muskelwirkung ebenso inkonstant, wie nach subkutaner Vergiftung oder nach der Einwirkung des in Ringerscher Flüssigkeit gelösten Giftes auf die Oberfläche des isolierten Muskels. Es können also keinenfalls Unregelmäßigkeiten der Resorption oder Giftverteilung mit im Spiele sein. Auch hat es keinen Einfluß, ob man Kalt- oder Warmfrösche verwendet, und es bleibt nichts anderes übrig, als unbekannte Verschiedenheiten der Muskelsubstanz verantwortlich zu machen.

Der Grad der Muskelwirkung kann sehr verschieden sein; sie geht aber nicht selten soweit, daß der Muskel auch auf die aller-

stärksten faradischen Reize (bei übereinander geschobenen Rollen bei direkter Reizung nicht mehr reagiert. Für den galvanischen Strom ist er dann in der Regel noch gut reizbar, doch habe ich auch durch diesen Reizmodus zuweilen nur noch schwache Verkürzungen des Muskels bewirken können.

Diese maximale Wirkung trat nicht sehr oft auf. Häufiger wird der Muskel nur für Einzelschläge (auch die stärksten!) unerregbar, reagiert dann aber noch mehr oder weniger auf stärkere tetanisierende Ströme. Der geringste Grad der Wirkung äußert sich in bedeutender Abnahme der Zuckungshöhe auf starke Einzelschläge.

Die Muskelwirkung ist in der Regel umkehrbar und durch Auswaschen des Muskels mit Ringerscher Flüssigkeit leicht aufzuheben. Bei etwas schwächeren Graden der Wirkung kann sich der Muskel auch ohne Auswaschen spontan in der feuchten Kammer, bis zur Rückkehr nicht bloß der direkten sondern auch der indirekten Reizbarkeit erholen. Die Wiederherstellung der direkten Reizbarkeit erfolgt nicht selten sogar auch dann, wenn (bei Versuchen am isolierten Nervmuskelpräparat) der Muskel dauernd im Giftbade belassen wird; die indirekte Reizbarkeit kehrt unter letzteren Bedingungen niemals zurück. Bei stärkeren Graden der Wirkung können viele Stunden vergehen, ehe die direkte Reizbarkeit wieder ganz hergestellt ist.

Nicht bloß das Muscarin sondern auch andere Ammoniumbasen und Alkaloide können die gleiche Muskelwirkung hervorbringen; ich habe sie bis jetzt nach Vergiftung mit Tetramethylammoniumchlorid, Valearin (Valeryl-trimethylammoniumchlorid) und Nicotin konstatiert. Vom Valearin haben offenbar schon Schmiedeberg und Harnack etwas Ähnliches beobachtet; sie bemerken am Schlusse ihrer Abhandlung: „doch scheinen auch andere nervöse Apparate und selbst die Muskeln an der Lähmung sich zu beteiligen.“ [1])

Nach Vergiftung mit Curarin habe ich niemals auch nur die geringste Andeutung einer solchen Muskelwirkung wahrnehmen können. Neurin- und Tetraäthylammoniumchlorid ließen keinen Einfluß auf die direkte Reizbarkeit des Muskels erkennen, das letztere verändert aber den Zuckungsverlauf des Muskels; hinsichtlich dieses letzteren Punktes sind noch eingehendere Untersuchungen erforderlich.

Bemerkenswert ist, daß gerade diejenigen Basen die direkte Reizbarkeit des Muskels aufheben oder stark herabsetzen können, denen auch die spezifische Herzwirkung eigentümlich ist.

1) Dieses Archiv VI, 112.

II.

Es war mir aufgefallen, daß nach Injektion verdünnter Lösungen der Chloride einiger Ammoniumbasen in den Lymphsack von Fröschen stets alsbald Kontraktionen der von der Lösung berührten Skelettmuskeln sich zeigen. Ich ließ daher Lösungen der verschiedenen Chloride in Ringerscher Flüssigkeit auf ausgeschnittene frische Gastrocnemien oder Semimembranosi einwirken und fand, daß danach fast momentan eine tonische Kontraktur des Muskels sich entwickelt, die steil bis zur Hälfte oder zwei Dritteln der normalen Zuckungshöhe des Muskels ansteigt, um sich dann sehr allmählich spontan, rascher bei der durch rhythmische direkte oder indirekte Reizung angeregten Tätigkeit des Muskels annähernd wieder auszugleichen; in der Regel findet nachträglich eine geringfügige Dehnung des Muskels statt. Variationen der Belastung ließen keinen Einfluß auf den Umfang und die Dauer der Kontraktur erkennen.

Die Erscheinung kann am gleichen Muskel in längeren Pausen wiederholt hervorgerufen werden; durch Bepinselung umschriebener Muskelpartien werden partielle Kontrakturen bewirkt. Ist der Muskel nicht ganz frisch — hat er etwa 1/2—1 Stunde unter feuchtem Fließpapier gelegen, so kann die Reaktion auch ausbleiben; im übrigen ist sie ziemlich konstant. Ich konstatierte sie bei den Chloriden des Cholin, Muscarin, Neurin, Tetramethyl-, Trimethylaethyl-, Trimethylvalerylammonium und Nicotin, niemals bei Curarin, Tetraaethylammoniumchlorid, Ammoniumchlorid. Brucin- und Methylbrucinchlorid. Der Einfluß der Konzenration der Giftlösung äußert sich darin, daß die Steilheit des Anstiegs der Kontraktur bei den ganz schwachen Konzentrationen abnimmt. So lange die Konzentration der Giftlösung noch ausreicht, um binnen 1—2 Stunden die maximale Nervenendwirkung eintreten zu lassen, ist die Kontraktur — bei den stärker wirkenden Basen: Valearin, Muscarin, Nicotin noch in Verdünnungen von ca. 0.005 Proz. nicht viel schwächer als bei den starken Konzentrationen von 0.01—0.1 Proz.

Ein vorher für einige Sekunden in eine Curarin-Ringerlösung (0.1 Proz.) eingetauchter und dann wieder gut mit Ringerscher Lösung abgespülter Gastrocnemius wird niemals durch die Lösung einer der obengenannten Basen in Kontraktur versetzt, wohl aber war letzteres der Fall, wenn der betreffende Muskel vorher von der Zirkulation aus maximal mit Curarin vergiftet worden war.

Eine voll entwickelte Kontraktur wird durch Versenken des Muskels in ein Curarin-Ringerbad (0.1 Proz.) häufig, aber nicht immer rascher gelöst als sie von selbst sich wieder ausgleicht.

Ich füge zur Illustration die Faksimiles einiger Kurven bei.[1])

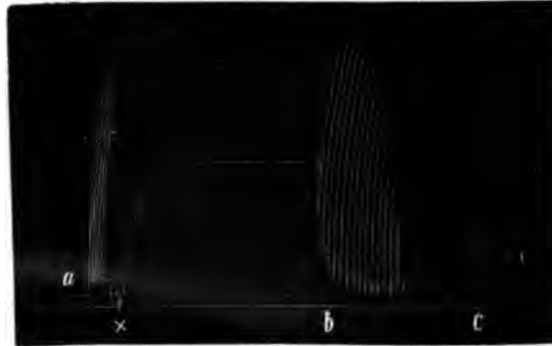


Fig. 1 Tetramethylammoniumchlorid 0,1 Proz.

a) Vor der Vergiftung. Zuckungen nach indirekter Reizung (150 mm RA). ><) Muskel in das Giftbad versenkt. Kontraktur. b) Indirekte Reizung (R. A. O.) alle 1 Minuten wiederholt, bis zur Aufhebung der indirekten Reizbarkeit. c) Zuckungen nach direkter Reizung bei 100 mm RA.



Fig. 2. Muscarinchlorid 0,1 Proz.

a, ><, b, c wie in Fig. 1.



Fig. 3. Nicotinchlorid 0,1 Proz.

a, ><, b, c wie in Fig. 1.

1) Ich bediente mich eines kleinen Apparates, der es ermöglicht, den horizontal ausgespannten mit dem Myographion verbundenen Muskel, dessen zuge-

ffenbar handelt es sich bei den kon-
rartigen Erscheinungen die Langley [1])
intravenöser Injektion von Nicotin bei
ərn beobachtet hat, um ähnliche Vor-
:. An Esculenten wenigstens sind sie,
us dem Vorhergehenden ersichtlich ist,
licotin nicht spezifisch. Langley
t in diesem Falle nach seinen Be-
tungen einen wechselseitigen Antagonis-
'on Nicotin und Curarin an. Wie oben
eben, konnte ich allerdings auch an
ənten einen Einfluß des Curarins auf
ontraktur feststellen. Speziell für die
nkontraktur füge ich das Faksimile von
n bei (Fig. 4), die mit den beiden
ocnemien eines und desselben Frosches
en wurden und zeigen, daß in der
a dem einen Präparat durch Eintauchen
rarinlösung (0.1 Proz.) die Kontraktur
ascher beseitigt wurde, als sie sich an
nderen, nur mit Nicotin behandelten
rate von selbst wieder ausglich. Es
ieses Resultat aber auch bei Nicotin
konstant zu erreichen und, wenn über-
, nur dann, wenn die Kontraktur durch
ken des Muskels in eine Nicotinlösung
nöchstens 0.05 Prozent entstanden
Ich möchte außerdem betonen, daß
lle diese Erscheinungen bei noch völlig
er indirekter Reizbarkeit des Mus-

Fig. 4.[2])



Nerv auf geeigneten Elektroden lag, während des Versuchs in ein mit
t-Ringerlösung gefülltes Gefäß zu versenken, resp. wieder daraus zu
en, ohne daß Muskel oder Nerv berührt und die feuchte Kammer geöffnet
den braucht. Die Kurven illustrieren zugleich das Fortschreiten der
endwirkung während des Aufenthaltes des Muskels im Giftbade und die
der Kontractur durch die Tätigkeit des Muskels.

Journ. of Physiol. 33, 374.

a und b durch Nicotinchlorid (0,05 Proz.) an den beiden Gastrocnemien
nd derselben Esculenta erzeugte Kontracturen, bei >< wurde der Muskel
dem Nicotin entfernt, mit Ringerlösung gewaschen und dann sofort in
ı-Ringerlösung versenkt, a zeigt den Verlauf der Kontracturkurve ohne
kung von Curarin.

kels abspielen, daß sich also die Hebung der Kontraktur des Muskels durch Curarin nicht wohl darauf zurückführen läßt, daß die für Curarin spezifisch empfindlichen Elemente bereits gelähmt oder beeinflußt worden sind. Da, wie oben erwähnt, durch die fraglichen Gifte auch solche Muskeln in Kontraktur versetzt werden können, die vom Kreislauf aus maximal mit Curarin vergiftet und indirekt total unerregbar sind, so scheint sie mir — auch mit Rücksicht auf ihre minimale Latenz — wenigstens bei Esculenten die Folge einer örtlichen Reizwirkung auf die kontraktile Substanz des Muskels zu sein, die nicht mehr möglich zu sein scheint, wenn die Muskeloberfläche vorher Curarin aufgenommen, möglicherweise irgendwie fester gebunden hat. Daraus, daß die Kontraktur nicht selten nach Applikation von Curarin rascher als von selbst zurückgeht, folgt jedenfalls noch nicht, daß diese Vorgänge in demselben Gebiete des Muskels stattfinden müssen, in welchem Curarin die Übertragung der Erregung vom Nerven auf den Muskel unmöglich macht.

XV.

Aus der medizinischen Klinik zu Greifswald.

Die Totalexstirpation des Duodenums.

Von

O. Minkowski.

Bald nach der Entdeckung des Pankreasdiabetes, schon im Jahre 1890, machte Enrico Reale[1]) auf dem X. internationalen medizinischen Kongreß unter anderem die Mitteilung, daß es ihm gelungen sei, bei Hunden auch durch Exstirpation des Duodenums einen Diabetes zu erzeugen. Bei einem Hunde, bei dem „die totale Pankreasexstirpation keine Glykosurie hervorgerufen hatte (!),“ exstirpierte Reale „9 cm des Duodenums, vom Gallengang abwärts. Nach dieser Resektion ließ sich eine geringe, aber beständige Glykosurie bis zum Tode nachweisen (2—4 g Zucker pro Tag).“ Auch bei drei kleinen Hunden, denen „vom zweiten Teil des Duodenums abwärts, 8—15 cm des Darmkanals“ exstirpiert wurden, konstatierte Reale eine geringe Zuckerausscheidung durch den Harn.

War schon der Umstand, daß, wie Reale gleichzeitig angab, von 16 Hunden, denen er das Pankreas „total“ exstirpiert hatte, nicht weniger als 5 den Diabetes vermissen ließen, geeignet, Mißtrauen gegen die von Reale angewandte Operationstechnik zu erregen, so lag die Annahme zum mindesten sehr nahe, daß er bei dem zuerst erwähnten Versuch Teile des Pankreas, die in der Bauchhöhle zurückgeblieben waren, erst bei der zweiten Operation mit dem Duodenum entfernt hatte. Ich glaubte daher auch ohne weiteres das Auftreten der geringfügigen Glykosurien, die Reale nach der Duodenalexstirpation beobachtet hatte, auf die bei dieser Operation unvermeidliche Schädigung des Pankreas beziehen zu müssen.[2])

1) Verhandlungen des X. internationalen medizin. Kongreß 1890. Bd. II, Abh. V, S. 97. Berlin 1891.

2) Minkowski, Weitere Mitteilungen über den Diabetes mellitus nach Exstirpation des Pankreas. Berl. klin. Wochenschrift Nr. 5, 1892.

Als dann später de Renzi und Reale[1]) noch einmal die Ergebnisse ihrer Versuche gegen meine Beobachtungen ins Feld führten, war ich in der Lage, auf eine Nachprüfung jener Versuche hinzuweisen, die mittlerweile von Weintraud[2]) im Laboratorium der medizinischen Klinik zu Straßburg ausgeführt war. Diese hatte ergeben, daß unter 10 Versuchen, bei welchen der Dünndarm einschließlich des unteren Abschnittes des Duodenums in mehr oder weniger großer Ausdehnung exstirpiert wurde, nur viermal ganz vorübergehend geringfügige Zuckermengen im Harne ausgeschieden wurden, daß aber ein Diabetes bei keinem dieser Versuche auftrat.

Damit schien die Frage des Duodenaldiabetes zunächst erledigt, und die Angaben von de Renzi und Reale begannen bereits der Vergessenheit anheim zu fallen. Denn als Pflüger[3]) vor einigen Monaten durch eine Abhandlung über den Pankreasdiabetes, die nicht verfehlte ein gewisses Aufsehen zu erregen, die Frage des Duodenaldiabetes in einer anderen Gestalt noch einmal wieder aufleben ließ, erwähnte er die Versuche der genannten Autoren gar nicht mehr.

In dieser Abhandlung unterzog Pflüger zunächst die Hypothese von der inneren Sekretion des Pankreas einer eingehenden Kritik. Es schien ihm dann, daß „bei dem jetzigen Stande der Wissenschaft Fortschritte auf diesem dunklen Gebiete durch Versuche am Frosche erzielt werden könnten.“ Er stellte fest, daß auch bei Fröschen nach der Totalexstirpation des Pankreas sich immer das Auftreten eines Diabetes nachweisen läßt, falls man nur gewisse Vorsichtsmaßregeln bei dem Aufsammeln des Harns und der Anstellung der Zuckerprobe beobachtet. Dann fand er aber ferner daß bei den Fröschen ein bis zum Tode andauernder Diabetes von gleicher, ja sogar stärkerer Intensität sich einstellt, wenn man das Duodenum, soweit es dem Pankreas benachbart ist, exstirpiert oder das Peritoneum zwischen Duodenum und Pankreas spaltet.

Nachdem er sich davon überzeugt zu haben glaubte, daß durch diesen Eingriff die Blutversorgung des Pankreas nicht wesentlich beeinträchtigt wird, und die Annahme einer Aktivierung der antidiabetischen Pankreaskraft durch einen aus dem Duodenum stammenden und mit dem Blute dem Pankreas zugeführten Stoff nicht

---

1) de Renzi und Reale, Berl. klin. Wochenschrift Nr. 23, 1892.

2) s. Minkowski, Ibid. Nr. 26, 1892.

3) Pflüger, Untersuchungen über den Pankreasdiabetes. Archiv f. d. ges. Physiologie Bd. 118, S. 267—325. 25. Juni 1907.

für zulässig erachtete, gelangte Pflüger zu der Ansicht, daß die antidiabetische Kraft des Pankreas durch die gangliösen Plexus beherrscht wird, die sich in den Wandungen des Duodenums befinden. Weitere Versuche schienen ihm dafür zu sprechen, daß das Duodenum auch dann noch seine antidiabetische Kraft auf das Pankreas ausübt, wenn auch die von außen zu dem Duodenum tretenden Nerven außer Wirksamkeit gesetzt sind. Er nahm daher an, daß in dem Duodenum ein „antidiabetisches nervöses Centralorgan" liegt. Er verglich dieses Centralorgan mit dem im Herzen gelegenen peripheren nervösen motorischen Centralorgan, welches zwar in gewissen Beziehungen zum Cerebrospinalorgan steht, aber noch zu funktionieren fortfährt und die Herzaktion ermöglicht, wenn auch alle von außen zum Herzen tretenden Nerven zerstört werden.

Pflüger sah sich schließlich auf Grund seiner Versuche veranlaßt, die Frage aufzuwerfen, ob überhaupt die Bauchspeicheldrüse als solche bei dem Zustandekommen des Diabetes eine Rolle spielt, „ob es überhaupt einen Pankreasdiabetes gibt." [1]) Nur der Umstand, daß nach partieller Exstirpation der Drüse sich der Diabetes erst einstellt, wenn die Degeneration der zurückgebliebenen Drüsenreste weit genug vorgeschritten ist, nötigte auch ihn zu der Annahme, daß die Drüsensubstanz selbst bei dem Diabetes eine wesentliche Rolle spielen muß. Er hielt nunmehr sogar die Möglichkeit für zulässig, daß die Epithelzelle des Pankreas ein antidiabetisches Ferment an den Blutstrom abgibt, jedoch nur mit der Einschränkung, daß das Pankreasepithel erst dann dazu befähigt wird, wenn es zuvor durch die duodenale Innervation aktiviert worden ist.

In einer späteren Mitteilung [2]) bestätigte Pflüger noch durch besondere Versuche an Fröschen, daß die funktionelle Beeinflussung des Pankreas durch das Duodenum sich nicht auf dem Wege der Blutgefäße durch irgend welche Stoffe vollzieht, die vom Duodenum dem Pankreas mit dem Blutstrome zugeführt werden, sondern einzig und allein durch Vermittlung der vom Duodenum zum Pankreas ausstrahlenden Nerven.

So schien es denn zunächst, als ob es jetzt Pflüger geglückt wäre, die von ihm schon früher ausgesprochene Ansicht, daß der Pankreasdiabetes „durch Nervenläsionen" bedingt sein könnte, durch

---

1) l. c. S. 319.

2) E. Pflüger, Über die Natur der Kräfte, durch welche das Duodenum den Kohlehydratstoffwechsel beeinflußt. Arch. f. d. ges. Physiologie, Bd. 119, S. 227. 31. Aug. 1907.

tatsächliche Beobachtungen zu begründen. Aber allerdings mit einer nicht unwesentlichen Modifikation: Jetzt handelte es sich nicht mehr um centripetale Nerven, deren Verletzung bei der Operation eine reflektorische Glykosurie bewirkte, sondern um centrifugale Nerven, welche die Funktion des Pankreas beherrschten!

Genau genommen, hatte sich Pflüger damit ganz denjenigen angeschlossen, die er bis jetzt so eifrig bekämpft hat, denen, die eine spezifische innere Sekretion des Pankreas angenommen hatten. Denn, wenn die „antidiabetischen Nervenfasern" erst „durch Anregung der Bildung von antidiabetischem Ferment" wirken, und dieses Ferment von der Epithelzelle des Pankreas geliefert wird, nun dann muß doch zunächst einmal ein Pankreas da sein, damit die Nervenwirkung zustande kommen kann, und die Exstirpation des Pankreas braucht nicht erst durch die unvermeidliche Nervenläsion wirksam zu werden; die Entfernung der Drüse selbst muß ja schon genügen, um den Funktionsausfall zu bewirken!

Daß auch die innere Sekretion des Pankreas, wie seine äußere — unbeschadet aller etwa bestehenden chemischen Korrelationen im Sinne Starlings[1]) — dem regulierenden Einfluß von centrifugalen Nervenbahnen unterliegen kann, hat wohl kein Vertreter der Lehre von der spezifischen Drüsensekretion bis jetzt in Abrede gestellt. Ich selbst habe mich schon in meinem Vortrage[2]) auf der Naturforscherversammlung zu Heidelberg im Jahre 1889 dahin geäußert, daß „Läsionen des Nervensystems, toxische Einflüsse, Cirkulationsstörungen und, was es sonst sei, ebenso gut durch eine Beeinträchtigung der Pankreasfunktion zum Diabetes führen könnten, wie sie einen solchen nach der bisherigen Ansicht durch Störungen der Leberfunktion oder auf anderem Wege bewirkt haben sollten."

So wäre denn zunächst in gewisser Hinsicht durch die neuere Auffassung Pflügers ein Ausgleich widerstreitender Meinungen erzielt worden. Aber darüber hinaus enthält die Pflügersche Arbeit noch die sehr wichtige und überraschende Angabe, daß die spezifische antidiabetische Pankreasfunktion unter dem Einflusse eines besonderen nervösen Centralorganes steht, welches in den Wandungen des Duodenums seinen Sitz hat, und daß erst die vom Duodenum einstrahlenden Nerven der Bauchspeicheldrüse die antidiabetische Kraft verleihen.

---

1) Starling und Krehl, Naturforscherversammlung in Stuttgart 1906.
2) Minkowski, Diabetes mellitus und Pankreasaffektion. Berlin, klinische Wochenschrift Nr. 8, 1890.

Die große Tragweite dieser Entdeckung ließ es wünschenswert erscheinen, die von **Pflüger** nur für den Frosch ermittelten Verhältnisse durch Beobachtungen an **Säugetieren** zu bestätigen. **Pflüger** versuchte daher auch bei Hunden das Duodenum unter Schonung des Pankreas zu exstirpieren. Leider gelang es ihm nicht, die technischen Schwierigkeiten der Operation zu überwinden, und die Tiere lange genug am Leben zu erhalten, um behaupten zu können, daß sie nach der Duodenalexstirpation dauernd diabetisch wurden. Doch gibt er an, daß er bei allen Versuchen ausnahmslos Glykosurie erhalten hat.

Die Versuche von **de Renzi** und **Reale** konnten ebensowenig für die **Plügersche** Auffassung, wie die von **Weintraud** gegen diese geltend gemacht werden, denn jene Autoren hatten auf die **Totalexstirpation** des Duodenums keinerlei Wert gelegt, indem sie das Duodenum bis zur Einmündungsstelle des Ductus choledochus geschont hatten. Mit der Aufgabe, auch den Anfangsteil des Duodenums vollständig zu entfernen, beginnen aber erst die großen Schwierigkeiten der Operation.

Bald nach dem Erscheinen der **Pflügerschen** Arbeit veröffentlichte Rud. **Ehrmann**[1]) eine kurze Mitteilung über Versuche, die er in der experim.-biolog. Abteilung des pathologischen Instituts zu Berlin angestellt hatte. **Ehrmann** nahm bei einer größeren Zahl von Hunden die vollständige Exstirpation des Duodenums unter Schonung des Pankreas vor, indem er, nach Entfernung des Duodenums, das Jejunum mit dem Magen vereinigte, während die Ausführungsgänge des Pankreas entweder alle unterbunden oder der mit dem Ductus choledochus gemeinsam mündende Pankreasgang in die Magenschleimhaut eingepflanzt wurde. Die Tiere überlebten mehrere Tage bis zu einer Woche, und gingen sämtlich an Fettgewebsnekrose zu Grunde. Abgesehen von leichten, vorübergehenden Zuckerausscheidungen am Tage nach der Operation, stellte sich **bei keinem dieser Tiere ein Diabetes** ein. **Ehrmann** glaubte aus seinen Versuchen den Schluß ziehen zu dürfen, daß „die Verhältnisse beim Säugetier anders liegen müssen, wie beim **Pflügerschen** Mesenterial- und Duodenaldiabetes des Frosches.“

Gegen die Beweiskraft dieser Versuche — durch welche **Ehrmann** selbst in Anbetracht der kurzen Lebensdauer der Tiere die Frage noch nicht für endgültig entschieden hielt — erhob nun

1) Rud. **Ehrmann**, Über den Einfluß der Ausschaltung des Zwölffingerdarms auf die Zuckerausscheidung und über seine Beziehungen zum experimentellen Pankreasdiabetes. Arch. f. d. ges. Physiologie, Bd. 119, S. 295, 1907.

Pflüger[1]) sofort Einspruch. Zunächst wies er auf die so häufigen Operationsfehler hin, die bei der Totalexstirpation des Pankreas, „dieser hinterhaltigen Operation“, vorkommen können, und hielt es für möglich, daß in den Versuchen von Ehrmann am Pylorus oder am Darmrest ein Restchen des Pankreas sitzen geblieben sein könnte. Es ist nicht recht klar, wie nach der Pflügerschen Auffassung ein solcher Pankreasrest das Zustandekommen des Diabetes hätte verhindern können, wenn das „antidiabetische Centralorgan“ im Duodenum entfernt war; zudem hatte ja Ehrmann absichtlich das ganze Pankreas zurückgelassen. Doch wollte Pflüger wohl sagen, es könnten noch Teile des Duodenums zurückgeblieben sein, die durch Reste der in ihnen enthaltenen nervösen Plexus das Pankreas zu aktivieren vermochten. Indessen ist es doch keineswegs so schwierig, die Totalität des Duodenums zu überblicken, wie es schwer ist, sämtliche vom Pankreas abzweigenden kleinen Drüsenläppchen sicher zu entfernen. Zudem glaube ich, daß Herr Dr. Ehrmann, der, als mein früherer Assistent, oft Gelegenheit gehabt hat, meinen Pankreasexstirpationen beizuwohnen, mit den anatomischen Verhältnissen so vertraut ist, daß ich nicht annehmen kann, er habe solche Operationsfehler begangen. Wichtiger aber ist zweifellos der andere Einwand, den Pflüger erhebt: daß kein einziges der von Ehrmann operierten Tiere den operativen Eingriff überstanden hat, daß vielmehr sämtliche Tiere an den unmittelbaren Folgen der Operation zu Grunde gegangen sind. Die Tiere waren zweifellos alle nach der Operation schwer krank. Da der Eintritt des Diabetes sich auch nach der Pankreasexstirpation bisweilen verzögert und die Zuckerausscheidung bei schwer kranken Tieren oft mehrere Tage vor dem Tode verschwindet, so waren die Versuche von Ehrmann allerdings nicht vollkommen überzeugend.

Mir schienen die technischen Schwierigkeiten der Totalexstirpation des Duodenums beim Hunde bei geeigneter Versuchsanordnung nicht unüberwindlich, und in der Tat ist es mir gleich bei den ersten Versuchen gelungen, ein Resultat zu erzielen, welches, wie mir scheint, vollkommen ausreicht, um die Frage nach der Rolle des Duodenums beim Pankreasdiabetes endgültig zu entscheiden. Ich zögere daher nicht diese Versuche schon jetzt mitzuteilen.

Daß bei der von Ehrmann gewählten Versuchsanordnung die Gefahr der Fettgewebsnekrose eine sehr große ist, kann nicht über-

1) E. Pflüger, Bemerkungen zu Rud. Ehrmanns Exstirpationen des Duodenums. Ibid. S. 297.

raschen. Bei der innigen Verbindung des Corpus pancreatis[1]) mit dem Duodenum ist eine Ablösung der Drüse vom Darme, selbst bei größter Schonung der Gefäße, nicht möglich, ohne daß wenigstens kleine Läppchen des Pankreas in ihrer Ernährung beeinträchtigt werden. Bleiben solche nekrotisierende Drüsenläppchen in der Bauchhöhle zurück, dann können die in ihnen enthaltenen Fermente zur Wirksamkeit gelangen. Dazu kommt, daß durch die Unterbindung der größeren sichtbaren Ausführungsgänge das Einfließen von Drüsensekret in die Bauchhöhle aus den zahlreichen, unvermeidlicherweise eröffneten kleinen Gängen nicht verhindert werden kann, während infolge der Operation am Darme vielleicht auch noch eine stärkere Aktivierung der Pankreasfermente ermöglicht wird.

Nun ist aber für die Verhinderung des Zustandekommens des Diabetes gar nicht das Zurücklassen des ganzen Pankreas notwendig. Es genügt, wie schon die ersten Versuche von v. Mering und mir ergeben haben, wenn ein verhältnismäßig kleiner Teil der Drüse in der Bauchhöhle zurückbleibt. Verzichtete man nun auf die Zurücklassung der ganzen Bauchspeicheldrüse, und entfernte man das Duodenum im Zusammenhange mit dem Corpus pancreatis, dann mußte die Operation sich sehr viel einfacher gestalten, und die etwa im Duodenum gelegenen nervösen Apparate konnten nur um so sicherer vollständig entfernt werden. Allerdings wäre das Auftreten eines Diabetes bei solcher Versuchsanordnung nicht absolut beweisend: es bliebe immer noch der Einwand, daß dieser Diabetes auf eine unzureichende Funktion des zurückgelassenen Pankreasstückes zu beziehen sei. Ein Ausbleiben des Diabetes aber mußte bei dieser Versuchsanordnung mit um so größerer Bestimmtheit gegen die Annahme einer besonderen Rolle des Duodenums bei dem Zustandekommmen des Pankreasdiabetes sprechen, namentlich wenn es gelang, durch eine nachträgliche Entfernung des zurückgelassenen Pankreasstückes noch den Diabetes hervorzurufen.

Eine andere Schwierigkeit, die Pflüger besonders hervorhebt, war sehr leicht zu überwinden. Pflüger sagt: „bei der Resektion des Duodenums muß die eine Durchschneidung zwischen dem Pylorus und dem Caput Pancreatis liegen. Die Lage dieser Schnittfläche ist eine solche, daß sie der Darmnaht die größten Schwierigkeiten entgegensetzt.“ Die Schwierigkeit, diese Stelle zu erreichen, liegt aber nur daran, daß das Duodenum durch den Ductus choledochus und die Peritonealfalten des ligamentum hepatoduodenale sowie die

1) Ich gebrauche die von Pflüger vorgeschlagenen Bezeichnungen für die einzelnen Teile des Pankreas.

Arterie und vena pancreatico-duodenalis in der Tiefe fixiert ist. Da diese Teile doch bei der Entfernung des Duodenums durchtrennt werden müssen, so empfiehlt es sich, die Operation mit ihrer Durchtrennung zu beginnen. Es gelingt dann leicht, gleich das ganze Duodenum so zu mobilisieren, daß man es mitsamt dem Pylorus aus der Bauchhöhle herausziehen und die Darmnaht mit derselben Bequemlichkeit anlegen kann, wie an jeder anderen Stelle des Darmtractus.

Um sicher zu sein, daß vom Duodenum kein Rest zurückbleibt, beschloß ich auch den Pylorus mit zu exstirpieren. Ohnehin war es nach den Erfahrungen am Menschen vorteilhafter, die Continuität des Magendarmtractus durch eine vorausgeschickte Gastrojejunostomie herzustellen und den Magen im Pylorusteil zu schließen.

Eine weitere Schwierigkeit bildete die Sorge für den Abfluß der Galle. Ihr läßt sich aber dadurch begegnen, daß man durch eine Cholecystenterostomie eine Verbindung zwischen der Gallenblase und dem Jejunum herstellt.

Da im ganzen der operative Eingriff immerhin ein recht komplizierter war, so beschloß ich, zweizeitig zu operieren.

Ich lasse nun die ausführliche Beschreibung des ersten Versuches folgen:

Einem männlichen Hunde von 9450 g Körpergewicht wird am 28. IX. 07 in tiefer Morphiumäthernarkose die Bauchhöhle durch einen 7 cm langen Schnitt eröffnet, der links von der linea alba dieser parallel vom Rippensaum bis in die Nähe des Nabels verläuft. Der linke M. rectus abdominis wird stumpf in der Längsrichtung seiner Fasern durchtrennt. Nachdem das Netz nach oben geschlagen, wird zunächst die ganze horizontale Portion (pars lienalis) des Pankreas bis zu ihrem Übergang in das Corpus Pancreatis reseciert. (Es geschah dieses nur, um die später zur Kontrolle vorzunehmende Totalexstirpation des Pankreas zu erleichtern). Nun wurde die hintere Magenwand in einer Entfernung von etwa 5 cm vom Pylorus mit dem Anfangsteil des Jejunum durch eine lege artis ausgeführte Gastroenterostomie verbunden, und sodann die Wunde geschlossen. Die Operation wird streng aseptisch ausgeführt, und es erfolgt glatte Heilung.

Das Tier, welches bei der ersten Operation in etwas mangelhaftem Ernährungszustande war, erhält vom dritten Tage nach der Operation ab zunächst nur Milch, wird aber später sehr reichlich mit Fleisch, Brot und Kartoffeln gefüttert, so daß es beträchtlich an Körpergewicht zunimmt und nach einem Monate 10900 g wiegt.

Am 29. X. 07. wird der Hund, 20 Stunden nach der letzten Fütterung der zweiten Operation unterworfen.

Es wird wieder in tiefer Morphiumäthernarkose ein Schnitt, dieses mal rechts von der linea alba, in gleicher Ausdehnung und parallel

dem ersten angelegt. Die Resektionsstelle am corpus pancreatis zeigt einige leichte Verklebungen mit dem Netz, die sich leicht lösen lassen; die Verbindungsstelle des Magens mit dem jejunum ist gut geheilt und beweglich.

Es werden nun der Ductus choledochus und alle peritonealen Verbindungen des Duodenums und des Pylorus nach der Leber hin doppelt unterbunden und zwischen den beiden Ligaturen durchschnitten, bis sich das ganze Duodenum mit dem Pylorus und dem Pankreas bequem aus der Bauchhöhle hervor ziehen läßt. Nun wird die Peritonealhöhle durch sterile Gazekompressen ringsherum sorgfältig abtamponiert, dann der Pylorus durch eine feste Ligatur zusammengeschnürt, und der Magen etwa 2 cm vor dem Pylorus quer durchtrennt. Der Pylorusteil mitsamt dem vorher beweglich gemachten Duodenum und Pankreaskörper in sterile Kompressen gehüllt und vorerst zur Seite gelegt, bis der Magen durch die Naht geschlossen, und die Naht gesichert ist.

Für den Verschluß des Magens bewährte sich mir eine Nahtmethode, die ich für diesen Zweck empfehlen kann. Es wurde schon vor der Durchtrennung der pars pylorica dicht vor der Stelle, an der die Durchschneidung beabsichtigt war, quer über den ganzen Magen eine Reihe von feinen Fäden in Abständen von je 5—6 mm von vorn nach hinten durch beide Magenwände hindurchgeführt und die beiden Enden eines jeden Fadens zunächst durch je eine Klemme zusammengehalten. Während nun ein Assistent den Magen an diesen Fäden so hielt, daß die vordere und hintere Magenwand sich aneinanderpreßten, wurden beide Magenwände gleichzeitig einige Millimeter vor der Fadenreihe Schritt für Schritt so durchtrennt, daß die Magenwunde durch Knüpfung der Fäden sofort geschlossen werden konnte, indem der Schnitt erst dann an dem nächsten Fäden vorbeigeführt wurde, wenn der vorhergehende geknüpft war. So war es möglich einen Austritt von Mageninhalt zu vermeiden, ohne an den Magen selbst Klemmen anlegen zu müssen, die die Magenwände quetschen und ihre Ernährung schädigen könnten. Zugleich hat das Verfahren den Vorteil, daß jede Vorstülpung der Schleimhaut vermieden, und eine günstige Lage der Schnittfläche, sowie eine richtige Adaptierung der Wundränder von vorne herein gesichert war. Eine zweite Nahtreihe wurde nun so angelegt, daß nur die Serosa und Muskularis gefaßt und die Schleimhaut nach innen gekrempelt wurde, dann zuletzt noch die ganze Schnittfläche eingestülpt und durch eine reine Serosanaht gesichert.

Nachdem der Magen geschlossen und wieder in die Bauchhöhle versenkt war, wurde nun der processus uncinatus des Pankreas in einer Entfernung von 2—3 cm von Corpus pancreatis zwischen 2 Ligaturen durchtrennt, wobei sorgfältig darauf geachtet wurde, daß keine abgequetschten Pankreaspartikelchen in die Bauchhöhle gerieten. Dann wurden die mesenterialen Verbindungen des zurückzulassenden Pankreasstückes mit dem Darme soweit durchtrennt, daß dieses Drüsenstück nur an seinem Gefäßstiel hing und in keinem direkten Zusammenhange mit dem Darm mehr stand, worauf dieses Pankreasstück in die Tiefe der Bauchhöhle versenkt wurde.

Das Duodenum wurde alsdann mitsamt dem Corpus Pancreatis vor allen mesenterialen Verbindungen losgelöst und soweit aus der Bauch-

höhle hervorgezogen, als es die bei der ersten Operation hergestellte Kommunikation des Jejunums mit dem Magen zuließ. Darauf wurde die Kuppe der Gallenblase mit einer festen Klemme gefaßt und dem Anfangsteil des Jejunums so genähert, daß keine übermäßige Spannung entstand, und zunächst die Serosa der Gallenblase an die Darmserosa angenäht. Dann eine regelrechte Cholecystoenterostomie ausgeführt und die Vereinigung der Gallenblase mit dem Darme durch eine Reihe von Serosanähten ausreichend gesichert. Dicht vor dieser Verbindungsstelle mit der Gallenblase wurde nun das herauspräparierte Darmstück abgebunden und durchschnitten, und schließlich die in der Bauchhöhle zurückbleibende Schnittfläche in gleicher Weise wie der Magen durch eine dreifache Naht versorgt.

So war denn das Duodenum mit dem größten Teil des Pankreas entfernt, und nur ein kleiner Teil der Bauchspeicheldrüse, der nicht mehr in Verbindung mit dem Darme stand, war in der Bauchhöhle zurückgeblieben.

Die Heilung erfolgte auch nach dieser zweiten Operation ohne alle Zwischenfälle. Es trat kein Fieber und keine Peritonitis auf und selbst die Hautwunde heilte per primam. Sowohl die Gastrojejunostomie, wie die Cholecystenterostomie funktionierten tadellos. Weder Erbrechen, noch Ikterus stellten sich ein.

Am Tage nach der Operation lag das Tier ruhig in seinem Käfig, sah aber ganz munter aus und erhob sich, als der Wärter kam, der ihm das Futter zu bringen pflegte. Am nächsten Tag machte der Hund einen ganz normalen Eindruck; er bellte, als die anderen Tiere in demselben Raume gefüttert wurden. Er erhielt an diesem Tage nur Wasser, am folgenden verdünnte Milch und dann einige Tage Milch und geweichten Zwieback.

Am 5. Tage nach der Operation wurde der Hund im hiesigen medizinischen Verein vorgestellt. und das entfernte Darmstück demonstriert. Das Tier fiel durch seine Munterkeit und Gefräßigkeit auf.

Am 6. Tage nach der Operation verschlang der Hund, ehe man es verhüten konnte, ca. 100 g Fleisch auf einen Bissen. Unmittelbar darnach fing er zu zittern an und machte einen schlechten Eindruck. Doch stellte sich kein Erbrechen ein, und am nächsten Tage war das Tier ganz munter. Offenbar hatte es sich um eine starke Zerrung an der Magennaht gehandelt, die aber glücklicherweise standhielt.

Seit dieser Zeit blieb der Hund beim besten Wohlsein. In den ersten Tagen nach der zweiten Operation hatte er infolge der unzureichenden Ernährung seine Gewichtszunahme wieder eingebüßt, so daß er am 3. XI. nur 9400 g wog. In der 2. Woche nahm er aber bei reichlicher Ernährung mit Fleisch, Milch und Brot wieder 450 g zu. Die Ausnutzung der Nahrung war allerdings, wie die Beschaffenheit des Faeces ergab, eine mangelhafte, was nicht auffallen konnte, da außer dem fehlenden Pankreassaft noch der störende Einfluß der Gastroenterostomie auf die Magenverdauung hinzukam. Doch besserte sich die Ausnutzung der Nahrung, als bei jeder Fütterung 0,25—0,5 g Pankreon hinzugefügt wurde.

Die erste nach der Operation am 30. X. morgens entleerte Harnportion, 260 ccm vom spez. Gewicht 1036, ergab bei der Trommerschen Probe eine sehr starke Reduktion. Die Untersuchung mit dem sehr empfindlichen Halbschattenapparat mit dreiteiligem Gesichtsfeld ergab eine Rechtsdrehung entsprechend 2,94 Proz. Zucker. In der ganzen Harnportion waren demnach 7,35 g Zucker enthalten.

Erst am Abend desselben Tages entleerte der Hund wieder Harn. Die Menge betrug nur 21 ccm, und der Harn zeigte nur eine ganz schwache Reduktion. Polarimetrisch 0,1 Proz. Zucker.

Am 31. X. morgens 43 ccm Harn, ohne Spur von Zucker. Polarimetrisch schwache Linksdrehung. Im Laufe des Tages erhält der Hund ca. 100 ccm Wasser. Am 1. X. morgens 80 ccm Urin, zuckerfrei. Der Hund erhält 150 ccm Milch. Am 2. X. morgens 140 ccm Harn von spez. Gew. 1005, keine Spur von Zucker.

Der Hund erhält 300 ccm Milch mit 120 g Weizenzwieback, also über 100 g Kohlehydrate. Die erste Harnportion von 70 ccm zeigte eine ganz geringe Reduktion und eine Rechtsdrehung entsprechend 0,06 proz. Zucker (also im ganzen nur 0,042 g Zucker). Die am 3. X. morgens entleerten 90 ccm Harn vom spez. Gew. 1013 sind wieder vollkommen zuckerfrei.

Seitdem blieb der Hund dauernd zuckerfrei, obgleich er täglich 300—500 g Pferdefleisch, 300 g Milch und 100 g Brot erhielt. Auch nachdem die Ausnutzung der Nahrung durch die Verfütterung von Pankreas verbessert wurde und die Harnmenge bei der reichlichen Ernährung auf 300—500 ccm mit einem spez. Gew. von 1030—1040 gestiegen war, trat keine Spur von Zucker im Harn auf.

Vom 11. X. an erhält der Hund täglich neben seiner Fleischration noch 50 g Rohrzucker und 50—100 g Reisbrei. Auch jetzt bleibt der Harn zuckerfrei. Nach einigen Tagen stellt sich jedoch Diarrhoe ein, die aber wieder aufhört, als der Reisbrei weggelassen wird. Bei 300 bis 500 g Fleisch und 50 g Rohrzucker täglich erfolgen Entleerungen fester geformter Kotmassen.

Nachdem der Hund fast 4 Wochen nach der Duodenalexstirpation beim besten Wohlsein und dauernd zuckerfrei geblieben ist, wird am 25. XI. durch eine dritte Operation der in der Bauchhöhle zurückgelassenn Pankreasrest exstirpiert. Das Drüsenstück ist stark geschrumpft und wiegt nur noch 3,5 g.

Am Nachmittage dasselben Tages entleert der Hund ca. 100 ccm Harn mit 9 proz. Zucker.

Am folgenden Tage erhält der Hund nur Wasser, am 27. XI. 300 g Fleisch. In den nächsten 24 Stunden scheidet er darauf im Harne 11,6 g Stickstoff und 33,5 g Zucker aus. Verhältnis von **D : N = 2,9.**

Das Tier wird nun für andere Versuchszwecke verwendet. Der Diabetes bleibt auf annähernd gleicher Höhe bis zu dem am 8. XII. erfolgenden Tode des Tieres.

Ein zweiter Versuch wurde an einem Hunde in der Weise ausgeführt, daß bei der ersten Operation auch noch ein Pankreas-

stück unter die Bauchhaut verlagert wurde. Nach der zweiten Operation hatte dieser Hund in der Bauchhöhle weder Duodenum noch Pankreas mehr; das unter die Bauchhaut verlagerte Pankreasstück reichte aber vollkommen aus, um das Zustandekommen eines Diabetes zu verhindern:

Bei einer 13,4 kg schweren Hündin wurde, wie bei dem vorigen Versuche, zunächst die pars lienalis des Pankreas exstirpiert, und eine Gastrojejunostomie ausgeführt. Darauf wurde sogleich auch der processus uncinatus am corpus pancreatis durchtrennt und von allen mesenterialen Verbindung bis auf seinen Gefäßstiel befreit. Ein etwa 6 cm langes Stück von dem äußersten Ende dieses Drüsenteils wurde nun in eine Hauttasche an der rechten Seite des Abdomens verlagert.

Zu diesem Zwecke wurde von der Bauchhöhle aus ein kleiner Einschnitt ins Peritoneum lateralwärts vom rechten M. rectus abdominis gemacht, die Muskelschichten des transversus und der obliqui sowie die Fascie von innen her stumpf bis unter die Haut durchbohrt, und nun von der Bauchhöhle aus eine Doyen'sche Darmklemme geschlossen eingeführt und ca. 8 cm weit im subcutanen Gewebe vorgeschoben, alsdann erst die Spitze der Darmklemme durch einen kleinen knopflochartigen Einschnitt durch die Haut nach außen geführt. Durch Auseinanderspreizen der beiden Branchen dieser Darmklemme, konnte so ein unmittelbar unter der Haut verlaufender, 8 cm langer Kanal gebildet werden, durch welchen zunächst ein starker Faden hindurchgezogen wurde, der an das Schnittende des processus uncinatus festgebunden war. An diesem Faden konnte nun das zu verlagernde Pankreasstück bequem in den subcutanen Kanal soweit hineingezogen werden, daß in der Bauchhöhle nur noch sein Gefäßstiel sichtbar blieb. Das Schnittende dieses Pankreasstückes wurde am andern Ende des subcutanen Kanals durch die Haut hinausgeführt und hier durch ein paar Nähte fixiert. Nach dem Zurückziehen der Darmklemme wurde dann vom Peritoneum aus das Loch in der Bauchwand durch eine einzelne Knopfnaht so geschlossen, daß ein Zurückgleiten des verlagerten Drüsenstückes unmöglich wurde, jedoch auch so, daß der Gefäßstiel nicht komprimiert wurde.

So lag nun das Drüsenstück bequem im subcutanem Gewebe, wo es ohne Entzündung oder Eiterung einheilen konnte. (Bildet man die Hauttasche in der Nähe der durch Naht zu schließenden Operationswunde, dann läßt sich eine Abszeßbildung und teilweise Vereiterung des verlagerten Drüsenstücks nicht immer vermeiden). Das aus der Hautöffnung hinausragende Schnittende wurde so versorgt, daß die größeren Gefäße unterbunden wurden, während der Ausführungsgang offen blieb, so daß sich eine Fistel ausbilden konnte, aus der bald heller, klarer Pankreassaft ausfloß. Eine das Drüsenstück schädigende Sekretstauung konnte so vermieden werden.

Die Heilung erfolgte ohne Störung. Doch war die Ernährung des Hundes in der ersten Zeit nach der Operation eine ungenügende, so

daß er vor der zweiten Operation, die bereits nach 14 Tagen ausgeführt wurde, nur noch 12 kg wog.

Bei dieser zweiten Operation wurde nun in genau der gleichen Weise, wie bei dem ersten Versuche, das Duodenum mit dem gesamten in der Bauchhöhle verbliebenen Pankreasrest entfernt, die Cholecystenterostomie ausgeführt und Magen und Darm durch dreifache Naht geschlossen.

Das Tier überstand auch diese zweite Operation. Es erbrach nur einmal, als es schon am Tage nach der Operation etwas Wasser erhielt, und zeigt danach vorübergehend leichten Gallenfarbstoffgehalt im Harne.

In der Nacht nach dieser zweiten Operation entleerte der Hund 265 ccm Harn mit 4,35 Proz., also im Ganzen 11,5 g Zucker. Bereits die nächste Harnprobe war aber vollkommen zuckerfrei, reduzierte nicht mehr Kupferoyxdhydrat und drehte die Polasisationsebene etwas nach links.

Der Hund blieb seitdem dauernd zuckerfrei, auch bei reichlicher Kohlehydratzufuhr.

Es kann nach den Ergebnissen dieser Versuche keinem Zweifel unterliegen, daß die Exstirpation des Duodenums beim Hunde einen Diabetes nicht zur Folge hat. Die vorübergehende Zuckerausscheidung, die eigentlich nur in der ersten nach der Operation entleerten Harnmenge nachweisbar war, kann bei der eingreifenden Operation am Pankreas nicht weiter auffallen. Man beobachtet mitunter sogar noch stärkere vorübergehende Glykosurien nach so ausgedehnter Resektion der Bauchspeicheldrüse. Trotz der Abwesenheit des Duodenums reichte der in der Bauchhöhle zurückgebliebene oder unter die Haut verlagerte kleine Rest des Pankreas sehr bald vollkommen aus, um selbst bei reichlicher Kohlehydratzufuhr die spezifische Funktion des Organes bei dem Zuckerverbrauch zu erfüllen. Von einem „nervösen Centralorgan“, welches in der Wand des Duodenums gelegen ist und der Bauchspeicheldrüse erst die antidiabetische Kraft erteilt, kann beim Hunde nicht die Rede sein.

Wenn ich mich mit diesen beiden Versuchen begnüge und es nicht für der Mühe wert halte, sie noch häufiger zu wiederholen, so ist der Grund der, daß es eigentlich gar nicht einmal der hier mitgeteilten Versuche bedurfte, um zu beweisen, daß die Pflüger'sche Lehre für den Hund nicht zutreffend ist. Ein Teil der von Pflüger am Frosche angestellten Versuche, auf die er so großen Wert legt, war für den Hund bereits bei den ersten Untersuchungen von v. Mering und Minkowski[1]) ausgeführt worden. Die Frage,

1) v. Mering nud Minkowski, Dieses Archiv Bd. XXVI, 1889.

ob nicht irgend welche Nervenverletzungen bei dem Auftreten des Pankreasdiabetes mit im Spiele waren, hatten wir uns von Anfang an vorgelegt und eingehend geprüft. Es heißt in unserer Arbeit[1]: „In zwei anderen Fällen unterbanden wir die Ausführungsgänge des Pankreas durch doppelte Ligaturen und präparierten dieses Organ vom Duodenum ab, indem wir es nur in Verbindung mit dem Mesenterium ließen. Auch diese Tiere wurden nicht diabetisch." In einer Anmerkung bemerkten wir: „In einem Falle gab die zuerst entleerte Harnportion eine deutliche Zuckerreaktion; der später entleerte Harn blieb zuckerfrei. Die vorübergehende Glykosurie mochte vielleicht auf die Cirkulationsstörung im Pankreas zu beziehen sein."

Noch beweisender waren in dieser Hinsicht die Erfahrungen bei den zuerst von mir[2]) und dann von Hédon[3]) ausgeführten Transplantationsversuchen, bei denen das ganze Pankreas aus der Bauchhöhle entfernt wird, und allein das unter der Bauchhaut eingeheilte Stück der Drüse, welches mit dem Duodenum in keinem Zusammenhang mehr steht, vollkommen ausreicht, um das Zustandekommen des Diabetes zu verhindern. Wenn Pflüger diesen Versuchen gegenüber den Einwand erhebt, daß doch vielleicht noch im Gefäßstiel oder auch nur in den Wandungen der zuführenden Arterie Nervenästchen verlaufen könnten, durch welche der Pfröpfling seine Beziehungen zu den nervösen Centren unterhalten kann, so ist doch nicht in Abrede zu stellen, daß bei diesen Versuchen die Verbindungen des Duodenums mit dem Pankreas zum mindesten so gründlich zerstört werden, wie bei den Pflügerschen Versuchen an den Fröschen, denen er das Mesenterium zwischen Duodenum und Pankreas durchtrennt hat.

Wenn ich trotzdem die hier beschriebenen umständlichen Operationen ausgeführt habe, um in einer, wie ich hoffe, einwandfreien Weise nachzuweisen, daß der Pflügersche Duodenaldiabetes beim Hunde nicht auftritt, so geschah es zunächst, weil ich glaubte, daß man einer Autorität, wie Pflüger, nur unter Beibringung von neuem Beweismaterial erfolgreich entgegentreten kann. Nebenbei hatte, wie ich offen gestehen will, auch die Schwierigkeit der Aufgabe für mich einen besonderen Reiz.

---

1) l. c. S. 12 des Sonderabdrucks.

2) Minkowski, Weitere Mitteilungen über den diabetes mellitus nach Extirpation des Pankreas. Nach einem am 18. XII. 1891 gehaltenen Vortrage. Berl. klin. Wochenschr. 1892, Nr. 5.

3) Hédon, Greffe Sous-cutanée des pancréas. Soc. de biol. 9, IV, 1892. Archiv de physiol. Oct. 1892.

Vielleicht könnte Jemand jetzt behaupten, daß beim Hunde die das Pankreas aktivierenden nervösen Centren nicht nur im Duodenum, sondern in anderen Darmabschnitten gesucht werden müßten. Wer solches behaupten will, mag den Beweis dafür beibringen. Aber es genügen in dieser Beziehung auch schon die oben mitgeteilten Versuche von Weintraud, und es scheint mir daher für den Organismus des Hundes die Frage nach dem „Pflügerschen Diabetes" endgültig erledigt zu sein.

Wie steht es nun mit den Beobachtungen am Frosche?

Es ist für mich eine peinliche Aufgabe, an die Kritik einer Pflügerschen Arbeit herantreten zu müssen, denn ich setze mich nicht gerne der Gefahr erneuter persönlicher Angriffe [1]) aus. Aber es kann mir niemand verdenken, daß mir die Entwickelung der Lehre vom Pankreasdiabetes am Herzen liegt. Zudem sagt Pflüger selbst: „Die Kritik ist das wichtigste Motiv jeden Fortschrittes. Deshalb übe ich sie." Ich darf für mich dasselbe in Anspruch nehmen.

Pflüger wendet sich gegen die von Ehrmann geäußerte Ansicht, daß die Verhältnisse beim Säugetier anders liegen müssen als beim Frosche. Ich teile in dieser Beziehung durchaus die Ansicht Pflügers. Zwar sagt Pflüger [2]): „Der erste klassische Zeuge für die absolute Verschiedenheit des Hundes und Frosches nach Exstirpation des Pankreas ist ja Niemand geringerer als O. Minkowski, welcher die ihm sicher höchst unangenehme Tatsache in zahlreichen Versuchen festgestellt zu haben glaubte, daß bei dem Frosch der Pankreasdiabetes fehle." Es liegt hier aber ganz offenbar ein Mißverständnis vor. In meiner ausführlichen Arbeit vom Jahre 1893 heißt es allerdings [3]): „Auch bei Fröschen ist es mir nicht gelungen, durch Exstirpation der Bauchspeicheldrüse einen Diabetes hervorzurufen." Ich wählte aber, wie der Zusammenhang ergibt, die Worte „mir nicht gelungen" nicht etwa zufällig. Denn es war mir schon damals bekannt, und von mir auf derselben Seite erwähnt, daß dieses einem Anderen, und zwar Aldehoff, schon gelungen war. Keineswegs habe ich jemals behauptet, daß in dieser Beziehung eine prinzipielle Verschiedenheit zwischen Hund und Frosch besteht. Ich habe vielmehr meine Auffassung an

1) s. Pflüger, O. Minkowskis neueste Verteidigung seiner über den Pankreasdiabetes aufgestellten Lehren. Pflügers Archiv Bd. 111. S. 61, 1906.

2) Pflügers Archiv Bd. 119, S. 298, 1907.

3) Minkowski, Untersuchungen über den diabetes mellitus nach Extirpation des Pankreas. Dies. Archiv Bd. XXXI, S. 95 (S. 11 des Sonderabdrucks).

einer anderen Stelle[1]) sehr deutlich ausgesprochen, indem ich sagte: „Es scheint demnach, daß nicht alle Tierarten sich der Pankreasexstirpation gegenüber in gleicher Weise verhalten. Doch folgt hieraus noch keineswegs, daß diesem Organe nicht bei allen Tieren die gleichen Funktionen für den Zuckerumsatz zukommen .... so ist die Möglichkeit gegeben, daß bei einzelnen Tierarten die Schwierigkeit, die Drüse vollständig zu entfernen ... oder irgend welche sonstige Bedingungen in Betracht kommen, welche das Auftreten der Zuckerausscheidung verhindern können.“ Beim Frosche glaubte ich die Schwere der unvermeidlichen Nebenverletzungen als die Ursache meiner negativen Resultate ansehen zu müssen. Ich habe in meiner Arbeit diese Nebenverletzungen — namentlich soweit sie durch die Verbindungen des Pankreas mit den Lebergefäßen bedingt sind — in einer ganz ähnlichen, wenn auch weniger ausführlichen Weise geschildert, wie es Pflüger jetzt getan hat. Diese Nebenverletzungen sind, wie ja auch Pflüger betont, zweifellos die Ursache der außerordentlich geringen Intensität der bei den Fröschen nach der Pankreasexstirpation auftretenden Glykosurie.

Pflüger hatte früher an die Unvollständigkeit der Exstirpation des Pankreas bei meinen Versuchen gedacht; jetzt nimmt er an, daß ich den Pankreasdiabetes des Frosches nur deshalb übersehen habe, weil die von mir angestellten Zuckerproben nicht empfindlich genug waren. Das ist vollkommen zutreffend! Ich war, als Kliniker, nicht gewohnt, da einen „Diabetes“ anzunehmen, wo bei der Verwendung der ganzen 24stündigen Harnmenge zu einer einzigen Probe eine Reduktion nicht sofort eintrat, und ich habe nicht, wie Pflüger, bis zu 24 Stunden gewartet, um zu sehen, ob sich dann nicht doch noch eine Spur von Kupferoxydul auf dem Boden des Reagenzglases angesammelt hatte[2]). Ich gebe zu, daß ich mir dadurch die für die vergleichende Physiologie gewiß sehr wesentliche, von Aldehoff[3]) im Jahre 1892 und von Marcuse[4]) im Jahre

1) Minkowski, Störung der Pankreasfunktion als Krankheitsursache. Ergebnisse der allgemeinen Pathologie von Lubarsch und Ostertag. I, 1, S. 75, 1896.

2) In seiner letzten Arbeit (Bd. 119, S. 233) erwähnt Pflüger, daß bei Sommerfröschen infolge des Schleimgehalts des aufgefangenen Harns die Reaktion an Schärfe und Schönheit dadurch verliert, daß das Kupferoxydul sich oft „nach einigen Stunden“ nur als ein „schmutzig gelbrötliches Sediment“ am Boden des Reagenzglases absetzt.

3) Aldehoff, Zeitschrift für Biologie, Bd. 28, S. 302, 1892.

4) Marcuse, Zeitschr. f. klin. Med., Bd. XXVI, S. 225, 1894.

1894 festgestellte, und von Pflüger jetzt bestätigte Beobachtung habe entgehen lassen, daß auch bei Fröschen die Entfernung des Pankreas eine Zuckerausscheidung bewirkt. Aber — ich kann in den Versuchen Pflügers trotzdem nur eine Bestätigung der von mir ausgesprochenen Ansicht erblicken, daß der Frosch ein für das Studium des Pankreasdiabetes durchaus ungeeignetes Versuchstier ist. Man braucht nur die Ausführungen Pflügers über die geringe Intensität der Glykosurie, über die bei der Operation verursachten Nebenverletzungen, über die kurze Lebensdauer der operierten Frösche, über den Einfluß der verschiedenen Jahreszeiten auf die Ergebnisse der Versuche usw. aufmerksam zu lesen, um überzeugt zu sein, daß an solchen Tieren irgend welche genaueren quantitativen Untersuchungen nicht möglich sind.

Wenn Pflüger nach der Exstirpation des Duodenums und nach der Spaltung des Peritoneums zwischen Duodenum und Pankreas „stärkeren" Diabetes beobachtet hat, als er ihn jemals nach Totalexstirpation des Pankreas hat entstehen sehen, so war dieses, wie er selbst hervorhebt, nur darauf zurückzuführen, daß die Blutzirkulation in der Leber bei jenen Operationen viel weniger geschädigt wird, als bei der Totalextirpation des Pankreas. Also nicht die besondere Intensität des Duodenaldiabetes, sondern die außerordentlich geringe Intensität des Pankreasdiabetes beim Frosche bewirkt jene Differenz!

Wenn wir nun aber annehmen müssen, daß in Bezug auf den Einfluß der Pankreasexstirpation ein prinzipieller Unterschied zwischen den Säugetieren und den Fröschen nicht besteht, dann dürfen wir doch wohl zunächst auch von der Vorstellung ausgehen, daß auch in bezug auf die Rolle des Duodenums zwischen beiden Tierklassen ein Unterschied nicht anzunehmen ist. Sehen wird jetzt, daß bei den Hunden die Totalexstirpation des Duodenums nur eine vorübergehende und offenbar nur auf die Schädigung des Pankreas zu beziehende Glykosurie, und keinen bleibenden Diabetes zur Folge hat, so müssen wir die Frage aufwerfen: handelt es sich denn bei dem Pflügerschen Froschdiabetes um mehr als um eine solche vorübergehende Glykosurie?

Pflüger betont, daß es sich um einen „bis zum Tode dauernden Diabetes" gehandelt hat, und glaubt eine Schädigung des Pankreas bei seinen Operationen ausschließen zu dürfen. Aber die Lebensdauer seiner des Duodenums beraubten Tiere betrug öfters nur wenige Stunden, am häufigsten 1, einige Male 2—3, nur ausnahmsweise 4—5 Tage. Einer von den Fröschen, denen das Peritoneum

zwischen Duodenum und Pankreas durchtrennt war, lebte 6 Tage. Aber diese lange Lebensdauer wurde nur dadurch erzielt, daß der Frosch in Eis verpackt und auf 0° Grad abgekühlt war, so daß er auf äußere Reize nicht mehr reagierte, am 5. Tage „scheinbar tot“ war, und nur durch die Pupillenreaktion sein Leben verriet. Kann man bei solchen Tieren von einem Überstehen des operativen Eingriffs und einem Ausgleich vorübergehender Störungen sprechen? Und beweist wirklich die „tadellose Beschaffenheit“ des Pankreas bei den Tieren, bei denen die das Pankreas versorgenden Blutgefäße bis zur vollkommenen Zerquetschung der mit ihnen verlaufenden Nervenfasern umschnürt wurden, daß nach der Wiederentfernung der Unterbindungsfäden die unterbrochene Blutzirkulation und die normale Ernährung des Pankreas vollkommen wiederhergestellt war?

Angesichts der klaren und unzweideutigen Resultate, welche die Versuche an Hunden ergeben haben, können die Ergebnisse der Pflügerschen Versuche kaum anders gedeutet werden, als daß schwere Eingriffe, die die Ernährung des Pankreas schädigen, auch beim Frosche, wie beim Hunde, eine Zuckerausscheidung zur Folge haben können, daß aber bei Fröschen die vorübergehende Natur dieser Störungen nicht festgestellt werden kann, weil bei ihnen ein Ausgleich der gesetzten Läsion nicht mehr zu Stande kommt, und die Frösche das Aufhören der Störung nicht mehr erleben.

Demnach halte ich auch die Versuche an Fröschen durchaus nicht für geeignet, die Behauptung zu begründen, daß den vom Duodenum in das Pankreas einstrahlenden Nerven eine wesentliche Rolle bei der Entstehung des Pankreasdiabetes zukommt.

XVI.

Aus der II. medizinischen Klinik München. (Direktor: Professor Friedrich Müller.)

Über die Beziehung von Milz und Knochenmark zu einander, ein Beitrag zur Bedeutung der Milz bei Leukaemie.

Von

Georg B. Gruber.

(Mit Tafel I.)

In seiner Monographie: „Experimentelle und klinische Untersuchungen über die Histogenese der myeloiden Leukaemie“ berichtet Kurt Ziegler[1]) über eine Versuchsreihe, in der er verschiedene größere und kleinere Tiere einer Behandlung mit Röntgenstrahlen unterworfen, die Organveränderungen dieser Tiere untersucht und in Beziehung zu den Organbefunden menschlicher myeloider Leukaemie gebracht hat. Auf Grund seiner Beobachtungen stellt er den Satz auf, daß zur Entstehung einer myeloiden Leukaemie eine Schädigung der Milz erforderlich ist, „welche zu einem Verluste oder zu funktionellem Versagen der follikulären Apparate führt.“ Er bringt die Milz, ein lymphatisches Organ, gewissermaßen in antagonistische Beziehung zum Knochenmark und erklärt die Erkrankung als ein Überwiegen der Funktion des Knochenmarkes gegenüber der unterdrückten zellbildenden Tätigkeit der lymphatischen Apparate der Milz. Es bestehe sonach die Leukaemie, „in myeloider Reaktion des Knochenmarkes“, in Einlagerung der ausgeschwemmten Knochenmarkelemente „in das verödete Milzgewebe und ungehemmtem Wachstum derselben unter gleichzeitiger Hyperplasie des Knochenmarkes“-„in sekundären Organveränderungen, eventl. Bildungen tumorartiger Markzellenherde“.

Kurt Ziegler sieht also in der Degeneration der Milz das Primäre für das Zustandekommen aller myeloid leukaemischen Er-

1) Kurt Ziegler, Jena 1906 (Fischer).

scheinungen; er betrachtet die Degeneration der Follikel als das auslösende Moment. Folgerichtig verlangt er deshalb auch zur Heilung der Leukaemie die Exstirpation des primär erkrankten Organes, nämlich der Milz.

Gegen die Zieglerschen Beobachtungen ist nun a priori einzuwenden, daß das, was er bei seinen Tieren, namentlich beim Kaninchen, myeloide Leukaemie nennt, in keiner Weise mit einer echten, menschlichen Leukaemie zu vergleichen ist. Es fehlt bei seinen Versuchen ein Blutbild, das der menschlichen myeloiden Leukaemie entspricht, indem sowohl das quantitative, wie qualitative Verhalten der Leukocyten ein anderes ist. Aber selbst wenn sich durch Bestrahlung der Milz ein leukaemieartiger Blutbefund beim Kaninchen erzielen ließe, so wäre noch kein zwingender Grund vorhanden, hiefür eine primäre Schädigung der Milzfollikel als auslösendes Moment anzusehen. Es müßte gezeigt werden, daß die fraglichen Veränderungen, die als Leukaemie gedeutet werden sollen, nach der Bestrahlung ausbleiben, wenn überhaupt keine Milz vorhanden ist. Dementsprechend konnte die Frage, ob wirklich zur Erzeugung „leukaemie"-artiger Erscheinungen das Vorhandensein degenerierender Milzfollikel eine conditio sine qua non ist, dadurch entschieden werden, daß Kaninchen, denen vorher die Milz exstirpiert worden ist, einer ähnlichen Röntgenbestrahlung unterworfen werden, wie in den Zieglerschen Versuchen. — Derartige Experimente habe ich an einer Reihe von Kaninchen vorgenommen und werde im folgenden darüber berichten.

Um sich über Veränderungen eines Blutbildes klar zu werden, ist die Kenntnis des normalen Blutbefundes der betr. Tierart unbedingt nötig. Darum erschien es angebracht, sich vor Beginn der experimentellen Arbeit über die morphologischen Blutverhältnisse des Kaninchens nach Qualität und Qantität der einzelnen Elemente Gewißheit zu verschaffen. Es waren also bei dieser Arbeit anzustellen:

1) Untersuchung des normalen Kaninchenblutes auf Haemoglobin und morphologische Bestandteile, und Untersuchung der normalen blutbildenden Organe;

2) Untersuchung des Blutes entmilzter Kaninchen;

3) Untersuchung des Blutes und der Blutbildungsapparate entmilzter Kaninchen, die der Wirkung längerer Röntgenbestrahlung unterworfen waren.

Über das normale Kaninchenblut finden sich in der Literatur verschiedene Angaben. Es sei zunächst auf die Beobachtungen Tall-

quist's und v. Willebrand's[1]) verwiesen, die einer Beschreibung der morpholog. Verhältnisse der farblosen Blutzellen folgende Zusammenstellung ihrer Zahlenwerte folgen ließen:

Kaninchen	Polynucl. Zellen mit pseudoeosinophil. Granulation	Polynucl. Zellen mit eosinophiler Granulation	Große mononucl. Leukocyten und Übergangsf.	Lymphocyten
1	48,2	2,6	26,0	23,2
2	56,2	0,8	20,0	23,0
3	54,2	0,8	22,1	22,9
4	51,0	0,6	23,4	25,5
5	56,8	1.2	22,8	19,2
6	57,1	1,0	22,7	19,2
7	54,0	1,2	24,0	20,8
8	89.2	2,8	23,0	25,0
9	55,0	0.5	22,0	22,5
10	45,4	1,8	28,4	24,4

Dabei sind die basophil gekörnten Leukocyten, die Mastzellen, nicht gesondert aufgeführt, kamen jedoch in einzelnen Präparaten in der Höhe von 2—5 Proz. vor. — So kommen Tallquist und v. Willebrand zu folgenden Durchschnittszahlen:

Polynucl., pseudoeos. Zellen	45—55	Proz.
Polynucl., eosinoph. Zellen	0,5—3	„
Große mononucleäre Zellen	20—25	„
Lymphocyten	20—25	„
Mastzellen	2—5	„

Die absolute Menge der weißen Blutkörperchen in 1 cmm geben sie mit 8000—13000 an.

Nach Kurt Ziegler[2]) enthält das Kaninchenblut:

Erythrocyten	5000 000—6000 000;	
Leukocyten	8 000— 13 000;	
Polymorphkernige, pseudoeos Leukoc.	30—40	Proz.
„Große, einkernige, myeloide Zellen mit basophilem, oft unregelmäßig begrenztem Protoplasma“	5—10—12	„
Lymphocyten	50—60	„
Mastzellen	3— 5	„

„und einige typische eosinophile Leukocyten.“

Wieder andere Werte entnehme ich einer Arbeit H. Heinekes[3]), der vor der Bestrahlung eines kleinen Kaninchens den Blutbefund des Tieres wiederholt untersuchte und folgende Werte notierte:

1) T. W. Tallquist und E. A. v. Willebrandt, Skandinav. Archiv für Physiologie, Bd. 10, 1900.

2) Kurt Ziegler, Experimentelle und klinische Untersuchungen über die Histogenese der myeloiden Leukämie. Jena 1906, Verlag von G. Fischer.

3) H. Heineke, „Experimentelle Untersuchungen über die Einwirkung der Röntgenstrahlen auf das Knochenmark“ usw. — Deutsche Zeitschrift für Chirurgie 58.

Gesamt-Leukocyten	9200;	12200;	9000;
	Proz.		Proz.
Pseudoeosinoph. Leuk.	42,1;	—	36,6;
Eosinophile Leukoc.	0,3;	—	0,3;
Mastzellen	0,9;	—	3,0;
Große Lymphocyten	18,2;	—	18,8;
Kleine Lymphocyten	38,3;	—	41,5;

Machen die verschiedenen Zahlenwerte bei den verschiedenen Autoren eine eigene quantitative Blutuntersuchung unerläßlich, so erscheint im Hinblick auf die auseinandergehenden Nomenklaturen für einzelne Leukocytenelemente auch eine eigene färberisch qualitative Untersuchung wohl gerechtfertigt.

Zur Färbung der Ausstrichpräparate wurde meist die Tingierung mit eosinsauerem Methylenblau nach Jenner-May angewandt. Triacidfärbung ist für das Kaninchenblut von untergeordneter Bedeutung, da es keine Zellen enthält, die rein neutrophile Granulation enthalten. Zum Studium der Kernstrukturen ist Hämatoxylinfärbung wohl kaum erläßlich, auch die Giemsa'sche Azur-Eosinfärbung sehr empfehlenswert. Die Pappenheim'sche Pyronin-Methylgrünfärbung ist anzuwenden, wenn es sich darum handelt, die Lymphocytennatur einer Zelle auszuschließen.

Im Ohrvenenblute des Kaninchens finden sich im wesentlichen Leukocyten von dreierlei verschiedener Granulierung sowie Lymphocyten und größere einkernige Zellen mit ungranuliertem, basophilem Protoplasma-Leib. Außerdem kann man hin und wieder ein ganz vereinzeltes kernhaltiges, rotes Blutkörperchen auffinden, dessen Kern entweder noch schön rund und groß die Radspeichenfigur des Chromatingerüstes aufweist, oder aber bereits dem Zerfall nahe, sich intensiv dunkel färbt, klein und unregelmäßig — wie zertrümmert — aussieht. — (Übrigens ist zu erwähnen, daß die Polychromatophilie für die roten Blutkörperchen des Kaninchens eine Normalerscheinung ist.) — Außerdem begegnet uns im strömenden Blute des Kaninchens ab und zu bei einzelnen Tieren ein einzelner Myelocyt, d. h. eine mononucleäre Leukocytenform, um deren ziemlich voluminösen, meist ovalen, ziemlich hellen Kern ein nicht sehr breiter, von feinen hellroten Körnchen erfüllter Protoplasmamantel liegt. Die Granula all jener Myelocyten, die ich im strömenden Blute antraf — es waren recht wenige — entsprechen denen der pseudoeosinophilen Leukocyten. Eosinophile, grobgranulierte Myelocyten konnte ich nie auffinden.

I Granulierte, polymorphkernige, farblose Blutzellen Die Mehrzahl dieser Elemente zeigt bei guter Kernfärbung den Kern in Form eines mehrfach gewundenen Stabes, der durchaus nicht von gleicher Stärke ist, sondern manchmal fadendünn erscheint. Seltener als man aus oberflächlicher Betrachtung schließen könnte, findet man mehr als einen Kern — und hat dann wohl bereits Degenerationsformen vor sich. Demnach sind alle Leukocyten, die (in Schnittpräparaten!) infolge ihres gewundenen Kernes leicht als mehrkernig getroffen werden, als polymorphkernig zu bezeichnen. Die Chromatinsubstanz dieser

Stabkerne weist eine Waben-Netz-Struktur auf, Kernkörperchen sind nicht wahrnehmbar. Das Protoplasma erscheint mit Hämatoxylin schwach und ziemlich homogen gefärbt, in der Randlinie vielleicht etwas stärker. Bei gehöriger Abblendung gewinnt man auch im Protoplasma den Eindruck einer feinwabigen Struktur, oder aber auch, als ob feine Körnchen das Protoplasma erfüllten und ihre Berührungslinie als feinstes, zartes Schattennetz zur Wahrnehmung gelangten. Färbt man mit schwacher Eosinlösung längere Zeit (ca. 24 Stunden) vor, so gelingt es auch, diese Körnchen im Protoplasma schwach rot gefärbt zur Darstellung zu bringen, im Gegensatz zu den echten, eosinophilen Granulis, die — bedeutend plumper von runder bis ovaler Form — das ganze Protoplasma dicht erfüllen, sich stark mit Eosin tingieren, sodaß sie, leuchtend rot, sofort in das Auge fallen; färbt man eine eosinophile Zelle mit Hämatoxylin allein, so macht das Protoplasma den Eindruck als sei es von Vakuolen erfüllt, es sieht kammerig aus, ist gewissermaßen das Negativ zum Protoplasma einer gleichartigen Zelle, die mit Eosin gesättigt wurde. Bei Anwendung von eosinsaurem Methylenblau ist die Körnchenfarbe im fein granulierten Protoplasma der polymorphkernigen Zellen eine hellrote, jedenfalls bedeutend intensivere als die der sogenannten neutrophilen Granula bei der Mehrzahl der menschlichen Leukocyten. Es unterliegt keinem Zweifel, daß es sich beim Kaninchen im analogen Falle um Zellen handelt, deren Granulation eine gewisse Affinität zu sauren Anilinfarbstoffen aufweist, die folglich als „acidophil“ anzusprechen ist, (vgl. Tafel I, Abbildung 5 und 6). Im Gegensatz zu den echten eosinophil granulierten Zellen, deren wie gequollen aussehende, grobe Körnchen sich im eosinsauren Methylenblau derartig mit der sauren Komponente färben, daß sie hochglänzend etwas ins Lila schimmernd aussehen, (vgl. Tafel I, Abbildung 7) — nennt man die fein granulierten, acidophilen Leukocyten „pseudoeosinophil.“ Wie schon H. Hirschfeld[1]) betont, sind aber diese Pseudoeosinophilen doch nicht ganz indifferent gegen alle basischen Farbstoffe, was auch durch lange dauernde Färbung in Pappenheims Methylgrün — Pyronin zu beweisen ist, wobei die Granula oder doch die Granula gewisser Partieen im Protoplasma sich mit Pyronin schwach rot färben. (Vgl. Tafel I, Abbildung 19.)

Diesen Formen entsprechen im Knochenmark als Vorstufen Zellen mit großem, rundem bis ovalem oder leicht gebuchtetem Kern, deren Granulation sich meist wie die der polymorphkernigen Zellen im Blute verhält. Auch im Knochenmark ist eine gewisse (sogar etwas stärkere) Affinität der pseudoeosinophilen Granula mononucleärer Formen zu basischen Farbstoffen wahrzunehmen; diese Zellen sind die Analoga der neutrophilen Myelocyten des Menschen; als solche charakterisieren sie sich erstens dadurch, daß alle Übergänge zu den polymorphkernigen Pseudoeosinophilen vorkommen, zweitens durch die eben erwähnte Tatsache stärkerer Basophilie der Granulation, was sich ja ebenfalls vollauf mit dem analogen Verhalten der mensch-

1) Hans Hirschfeld, „Beiträge zur vergl. Morphologie der Leukocyten. In. Diss. Berlin 1897.

lichen Myelocyten deckt. Im folgenden sind darum nur diese Zellen als pseudoeosinophile Myelocyten bezeichnet; (vgl. Tafel I, Abbildg. 1, 2, 18;)

Außerdem finden sich im Kaninchenblut noch — und zwar häufiger als beim Menschen — die sog. Mastzellen, d. s. basophil grob granulierte polymorphkernige Leukocyten; (vgl. Tafel I, Abbildg. 8) Hier färbt sich der Kern blasser als bei den anderen Polymorphkernigen, weshalb auch seine Vielgestaltigkeit nicht stets leicht zu beweisen ist. Mit Methylenblau sind die basophilen Granula vorzüglich darzustellen; sie erscheinen hierbei in schönem tiefsattem Blau; bei Verwendung älterer Farblösungen kann der Ton der Granula leicht etwas ins Rotblaue spielen. (Metachromasie). In Methylgrün-Pyronin färben sich die Granula mit dem stark basischen Pyronin tief rot, während die übrigen Zellpartien verschwommenen blaugrau bis blaugrün erscheinen; (vgl. Tafel I, Abbildg. 21.).

II. Ungranulierte, mononucleäre farblose Blutzellen. Man findet im Kaninchenblute eine reichliche Anzahl Zellen von Erythrocytengröße bis zu recht umfangreichen Formen, die im Durchmesser sogar das Drei- und Vierfache eines roten Blutkörperchens messen. Die in der Größe den Erythrocyten entsprechenden Zellen beobachtet man auch in den Follikeln der Lymphdrüsen, man sieht sie im Lymphsaft und bezeichnet sie als „Lymphocyten.“ Bei May'scher Färbung zeigen sie um den helleren oder dunkleren runden, manchmal leicht gebuchteten ovalen Kern einen schmalen Protoplasmasaum, der meist sehr stark basophil, also dunkelblau gefärbt ist und den Eindruck machen kann, als sei er verschwommen basophil granuliert. Dieser Saum kann aber auch so schmal sein, daß er den Eindruck einer scharf ausgezogenen Kreislinie hervorruft. Der Kern besitzt ein etwas verwischtes, plumpes Chromatingerüst, in dem man so und so oft den Eindruck eines oder mehrerer nicht gerade scharf abgegrenzter, jedenfalls stärker basophiler Körperchen haben kann; (vgl. Taf. I, Abbildg. 15—17!). Färbt man mit Hämatoxylin-Eosin oder noch Giemsa, so fällt der Protoplasmamantel kaum ins Auge gegenüber dem Kerne, der sein Gerüst deutlich zu erkennen gibt; er stellt sich als ein grobes Maschenwerk dar, das von einem ziemlich zentral liegenden basophilen, mehr oder minder scharf umschriebenen Klümpchen nach allen Seiten ausstrahlt. Bei Anwendung der Methylgrün-Pyroninfärbung Pappenheims erscheint der Protoplasma-Saum der Lymphocyten intensiv rot, oft wie scharf ausgezogen, oft wie staubartig gekörnt; (vgl. Taf. I, Abb. 24) der Kern tingiert sich blaurot bis blaugrau. Kernkörperchen ließen sich mit Sicherheit in diesen kleinen Lymphocyten nicht feststellen, während dies bei großen mononucleären Zellen mit ungranuliertem basophilem Protoplasma, die sich mit Pyronin — Methylgrün nach Lymphocytenart färbten, vielfach gelang — (vgl. Taf. I, Abb. 22 u. 23) jedoch nicht in so durchgreifender, einheitlicher Weise, daß sich damit eine eigene Zellspezies aus der großen Gruppe der basophilen ungranulierten mononucleären Zellen hätte beweisen lassen.

Als „große, mononucleäre“ Zellen sind im folgenden jene umfangreicheren Formen ungranulierter, basophiler Zellen bezeichnet, die vor-

hin schon erwähnt wurden. Sie scheinen durch eine Reihe von Übergängen und Zwischenstufen mit Zellen vom Lymphocytentypus verbunden zu sein, so daß eine genaue Abgrenzung der Größe nach nicht möglich ist. Ebenso geben uns verschieden tiefe Farbenabstufungen zwischen Protoplasma und Kern keinen Anhaltspunkt für eine Differentialdiagnose, weil diese Unterschiede durch die nicht stets gleich lange Differenzierung der Präparate oder infolge der nicht immer gleich alten, nicht immer gleich intensiv tönenden Farblösungen bedingt sein können. Welche verschiedenen Zellarten wir unter dem Bilde großer, mononucleärer, ungranulierter basophiler Zellen vor uns haben, ist noch nicht geklärt; (vgl. Taf. I Abb. 9—11). Sicher ist eine große Zahl von Lymphocyten unter ihnen, vielleicht jüngerer noch nicht fertig entwickelter Art. Man kann ja solche Zellen recht gut beobachten, wenn man Abstriche einer mesenterialen Lymphdrüse vom Kaninchen färbt; da sehen wir neben den typischen großen Lymphocyten große Elemente mit sattblau tingiertem (bei May-Färbung), manchmal wie basophil undeutlich gekörnt aussehendem, gegen den Innenrand vielleicht etwas hellerem Protoplasmamantel — um einen hell gefärbten Kern von runder bis ovaler Form. Mit zunehmender Kerngröße nimmt die Deutlichkeit seines Chromatingerüstes ab und der Nachweis eines gut erkennbaren Körperchens in der Kernsubstanz wird zur Unmöglichkeit. Bei Triacidfärbung erscheinen die Kerne der großen basophilen mononucleären Formen gegenüber den grüngrau tingierten Lymphocyten leicht graurot, oder violett. Auf Lymphdrüsen-Ausstrichen lassen sich mit den Form-Übergängen · alle Übergänge zwischen den beiden Farbnuancen feststellen.

Sind große mononucleäre, ungranulierte basophile Zellen im Besitze eines gekerbten oder gebuchteten Kernes, der sich gleich tief und noch mehr mit Farbstoff imbibieren kann, als das Protoplasma, so nennen wir sie „Übergangsformen", weil sie den Übergangsformen des Menschen (Ehrlich) entsprechen (vgl. Taf. I Abb. 15—17). — Aus der Summe der basophilen, ungekörnten, einkernigen großen Zellformen beim Menschen haben einige Autoren Gruppen herausgehoben und sie unter Hervorhebung bestimmter Charaktere als bestimmte Zellart spezialisiert. So stellt sich Nägeli's Myeloblast als eine basophile, ungekörnte, einkernige große Zellform dar, die im Knochenmark ihren Sitz hat und unter patholog. Umständen ins kreisende Blut austritt. Kurt Ziegler[1]) schließt sich Nägeli an, geht aber noch weiter, indem er im strömenden Blute des Kaninchens „basophile ungranulierte große Zellformen" als „große einkernige myeloide Zellen", an anderer Stelle als „basophile Myelocyten" oder gar als „ungekörnte Myelocyten" aufführt. Um nichts zu praejudizieren, wählen wir für alle derartigen Zellformen die rein morphologische Bezeichnung: „Große, mononucleäre, basophile, ungekörnte Zelle", von der als „Übergangsform" die Zelle mit mehr oder minder gekerbten Kern (Splenocyt) abgegrenzt werden kann.

Nach dieser qualitativen Schilderung der Elemente des Kaninchen-

---

1) Kurt Ziegler, „Experimentelle und klinische Untersuchungen über die Histogenese der myeloiden Leukämie". Jena 1906. Fischer.

blutes, das dem Menschenblut vielfach gleich kommt, sind auch die später aufgeführten Befundreihen zu verstehen, die sich beziehen auf:

1. Pseudoeosinophil granul., polymorphkernige Zellen,
2. Basophil granulierte, polymorphkernige („Mast-") Zellen,
3. Eosinophil „ „ Zellen,
4. Große, mononucleäre, basophile, ungranul. Zellen,
5. „Übergangsformen",
6. Lymphocyten;

natürlich wurde auch auf die ab und zu im Blute vorkommenden echten Myelocyten und Erythroblasten geachtet.

Der Hb-Wert ist stets mittels eines korrigierten Sahli'schen Hämometers gemessen worden. Zur Zählung der Erythrocyten und Leukocyten in 1 cmm Blut dienten die Zeißschen Mischpipeten und die Neubauer-Zeißsche Zählkammer.

Über die quantitative Zusammensetzung des Kaninchenblutes stehen mir 15 Protokolle zur Verfügung, von denen ich 4 der Freundlichkeit des Herrn Dr. H. Scherrer verdanke. Es wurde Wert darauf gelegt, den Blutbefund der Tiere an verschiedenen Tagen hintereinander aufzunehmen, um eventuelle Schwankungen zu beobachten. Zum mindesten wurde eine zweimalige Untersuchung für nötig erachtet. Aus meinen Protokollen sei hier nur eines vollständig wiedergegeben, das die weite Möglichkeit der Schwankungen deutlich zeigt. Noch eklatanter gehen dieselben aus der Tabelle hervor, in der die Prozente der einzelnen Elemente in absolute Zahlen für 1 cmm umgerechnet sind.

Hb	Blutkörperchen		Polymorphkernige			Große mononucl. bas. ungr.	Übergangsformen	Lymphocyten	Myelocyten
	rot	farblos	Pseudoeosinophile Proz.	Mastzellen Proz.	Eosinophile Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.
80	6800000	12000	47,0	6,7	2,3	6,3	4,0	33,7	—
80	7840000	18700	56,5	10,0	2,0	13,5	3,0	15,0	—
77	7340000	12300	45,0	12,5	1,0	7,8	6,5	27,2	—
—	—	17200	53,3	6,0	2,0	8,0	4,3	26,4	—
90	7100000	11200	32,5	9,5	1,7	6,5	8,3	41,5	—
—	—	13400	54,5	3,5	0,5	5,0	9,3	27,2	—

Diese Tabelle auf absolute Werte umgerechnet.

Farblose Blutkörperchen	Polymorphkernige			Große mononucl. bas. ungr.	Übergangsformen	Lymphocyten
	Pseudoeosinophile	Mastzellen	Eosinophile			
12000	5640,0	804,0	276,0	756.0	480,0	4044,0
18700	10565,5	1870,0	374,0	2524,5	561,0	2805,0
12300	5535,0	1537,5	123,0	959,4	799,5	3345,6
17200	9167,6	1032,0	344,0	1376,0	739,6	4540,8
11200	3640,0	1064,0	190,4	728,0	929,6	4648,0
13400	7203,0	469,0	67,0	670,0	1246,2	3644,8

Da die Wiedergabe sämtlicher Protokolle zu weit führen würde, führe ich nur nachfolgende Maximal- und Minimalbefunde der erwähnten 15 Protokolle für die einzelnen Elemente auf.

		Maximum	Minimum
Erytrocyten	in 1 cmm	9200 000	3925 000
Leukocyten		18 700	5 300
		Proz.	Proz.
Pseudoeosinophile		67,3	30,5
Mastzellen		15,5	1,5
Eosinophile		4,2	—
Große monon. bas. ungr. Zellen		13,5	1,2
„Übergangsformen"		15,0	—
Lymphocyten		54,6	15,0
Myelocyten		0,6	—

Von den untersuchten Tieren kamen 10 zur Sektion. — Es konnten keine Erscheinungen festgestellt werden, die auf die normale Blutzusammensetzung irgend welchen Einfluß gehabt haben könnten, man müßte schon gerade den bei Stallhasen nahezu obligatorischen Parasitismus von Coccidium Cuniculi hierherrechnen, der in jedem Fall der bei dieser Arbeit in Betracht kommenden Tiere zu konstatieren war. — Es erhellt beim Durchsehen meiner Befundlisten klar, daß man auf eine ergiebige physiologische Breite Rücksicht nehmen muß, will man ein Durchschnittsbild der Bestandteile des normalen Kaninchenblutes geben; zugleich geht daraus hervor, daß derjenige, der mit Kaninchen experimentieren will und den Ausschlag des Experimentes am Blute des Tieres kontrolllieren muß, unbedingt darauf angewiesen ist, das Blut des noch unberührten Tieres an verschiedenen Tagen zu untersuchen, sich gewissermaßen eine Durchschnittszahl der Blutelemente für dies Tierindividuum zu erwerben. Gleichwohl möchte ich auf Grund meiner Befundstatistik eine Durchschnittsreihe der bei der Blutuntersuchung des normalen Kaninchens in Betracht kommenden Elemente geben.[1]) Sie lautet:

Erythrocyten	in 1 cmm	4500000	7500000
Leukocyten		5000	14000
			Proz.
Pseudoeosinophile			37 —54
Mastzellen			2 —10
Eosinophile			0,5— 2,5
Große monon. bas. ungr. Zellen			2 — 8
„Übergangsformen"			1 — 5
Lymphocyten			28 —44
Myelocyten, Normoblasten	können in verschwindend geringer Zahl vorhanden sein.		

Den Hb-Wert für ein normales Kaninchen anzusetzen, habe ich auf Grund meiner Beobachtungen nicht gewagt, da offenbar unsere in langer Stallhaft gehaltenen Tiere in diesem Punkte absolut nicht als normal gelten können; im gleichen Sinne spricht sich auch v. Domarus[2]) aus.

1) Die Durchschnittszahl wurde erhalten, indem das arithmetische Mittel der Höchst- und Niedrigstwerte von sämtlichen Tieren berechnet wurde.

2) v. Domarus, Über Blutbildung in Milz und Leber bei experimentellen Anämien". Dieses Archiv 1908, Bd. 58.

H. Heineke[1]) hat zuerst gezeigt, daß durch länger an(Einwirkung von Röntgenstrahlen neben Schädigungen d phatischen Apparate gewisse rückbildende Prozesse im Knoc vor sich gehen, die nach einem Zerfallstadium reparatorisc gängen weichen. Die Regeneration kann dann über das liche Maß hinausgehen und einen abnorm hohen Zellge ursprünglich stark beeinträchtigten Stätte herbeiführen[2]). P. und Ziegler[3]) bestätigten eine Schädigung der Follikular der Milz durch Bestrahlung, der eine Verödung der Pul folgte. Knochenmark- und Milz-Schädigung gingen in parallel vor sich. Dadurch, daß K. Ziegler[4]) mittels l das Knochenmark schützte, glaubte er eine Strahlenwirkun; Milz allein erreichen und das Verhalten des „primär ı schädigten" Knochenmarks beobachten zu können. Er seinen Ergebnissen den Schluß, daß Milz und Knochenma zu einander in Korrelation stehende Organe für die Bl sind, insofern sie sich gewissermaßen in Schach halten, sie normal, daß aber die verödete Milz zur Übernah myelogenen Funktion geradezu gezwungen und auf diese V an Leukaemie mahnendes Blutbild erreicht werde. K. spricht von einer „myeloiden Leukämie", die auf solche V standekommt und stützt sich, was den Blutbefund angeh sächlich auf die allerdings manchmal beträchtliche relat mehrung der großen basophilen, ungranulierten Zellformen, Elternformen der echten Myelocyten erklärt und „ungranulie cyten" benennt. Für die Richtigkeit der Annahme, daß di basophilen mononucleären Formen des Kaninchens wirklich echter granulierter Markzellen sind, bringt er selbst keine er zitiert Nägeli und einige andere Autoren, die auf de der Ehrlichschen Anschauung fußend, eine ungranulierte Stammzelle der Leukocyten im normalen Marke des Mens nehmen. Wenn man Ausstrichpräparate von normalen K

1) H. Heineke, „Experimentelle Untersuchungen über die der Röntgenstrahlen auf das Knochenmark usw.; Deutsche Zeitsc Bd. LXXVIII.

2) H. Heineke, Ber. üb. d. Verhandl. d. 22. Kongr. f. inn. Me Diskussion.

3) P. Krause und K Ziegler, „Experim. Untersuchungen wirkung der Röntgenstrahlen auf das tierische Gewebe". Fortschritt Gebiet der Röntgenstrahlen X. 1906.

4) K. Ziegler. „Experim. und klin. Untersuchungen über die der myeloiden Leukämie". Jena 1906. Fischer.

Lymphdrüsen gesehen und die große Menge basophiler ungranulierter großer mononucleärer Zellen darinnen beobachtet hat, die denen des strömenden Blutes oft völlig gleichen, wird es schwer, die Ansicht aufrecht zu erhalten, daß die großen mononucleären Zellen des Kaninchenblutes „Myelocyten“ sind. Zudem fehlen sämtliche Übergänge von diesen Formen zu den entwickelten polymorphkernigen Granulocyten. Man kann daher das Prädikat „myeloid“ hier nicht anerkennen, kann nicht zugeben, daß vom Autor eine Parallele zwischen einem solchem Blutbefund nach protrahierter Bestrahlung und dem bei der myeloiden Leukämie des Menschen gezogen wird. Wenn schon „Leukämie“, so müßte man den Zustand der Kaninchen Zieglers „Bestrahlungs-Leukämie“, „experimentelle Leukämie“ oder ähnlich nennen— und nur mit der höchsten Skepsis dürften Vergleiche zwischen diesem Zustand und dem der menschlichen myeloiden Leukämie zu ziehen und entgegenzunehmen sein; denn, um am Menschen die Diagnose einer myeloiden Leukämie zu stellen, fordern wir eine Vermehrung der absoluten Leukocytenzahl, das Auftreten von reifen, neutrophilen und eosinophilen Myelocyten im Blute oder doch sicheren Vorstufen derselben, außerdem das Vorhandensein von deutlichen Übergängen der Myelocyten zu echten polymorphkernigen Leukocyten.

Um die Richtigkeit des Zieglerschen Schlusses, daß zum Zustandekommen dieses mit der menschlichen Leukämie nicht zu vergleichenden Blutbildes nach Bestrahlung eine Degeneration der Milzfollikel nötig sei, zu prüfen, habe ich an einer Reihe von Kaninchen vor der Bestrahlung die Milz exstirpiert.

Es wurde dem Tiere die Milz exstirpiert, nachdem sein Normal-Blutbild durch einige Tage festgestellt worden war. Nach Verheilung der Wunde und abermaliger Feststellung des Blutbefundes wurde das Tier und zwar allein seine hinteren Extremitäten einer Röntgenbestrahlung von längerer Dauer (und wiederholter Blutkontrolle) ausgesetzt. Dieser Zeit folgte eine Regenerationspause. Erschien der Erfolg des Versuches nicht genügend, so wurde eine weitere, ja auch eine 3. Bestrahlung vorgenommen, wobei zwischen den Bestrahlungen stets Ruhepausen von verschieden langer Zeit eingeschaltet waren.

Zur Bestrahlung, die aus technischen Gründen in relativ kurzen (45 bis 90 Minuten 1—3 mal tägl.) Sitzungen abgehalten werden mußte, wurde das Tier auf ein Gestell mit Kopfhalter gebunden und derartig mit Bleifolien geschützt, daß nur die hinteren Extremitäten der Strahlenwirkung ausgesetzt waren. Benutzt werden nur harte Müller'sche Wasserkühl-Röhren, die in einem Abstand von 25 bis 15 cm bei 7 bis 10 Ampère Spannung und 13 bis 20 cm Funkenlänge arbeiteten. — Ich möchte es nicht unterlassen, an dieser Stelle Herrn Professor Rieder

für die bereitwillige Überlassung der Röntgenkammer des klinischen Institutes meinen Dank auszusprechen.

Für die Lösung der Aufgabe kam es darauf an, den Blutbefund des Tieres regelmäßig zu bestimmen; außer der Feststellung der absoluten Werte der Blutkörperchen wurden deshalb Ausstrichpräparate (vom Blute der Ohrrandvene) hergestellt und die Leukocytenelemente ausgezählt. Nach der Sektion des Tieres wurden die Organe in Formalin fixiert, in Paraffin geschnitten, teils mit Eosin-Haematoxylin, teils nach May-Grünwald, teils im Triacidverfahren gefärbt.

Versuch 1. Weibliches Kaninchen nach Feststellung seines Normal-Blutbildes unter Urethannarkose splenektomiert. 12 Tage nach der Operation, die eine schon von anderen beobachtete Leukocytose nach sich zog, wurde mit der Bestrahlung begonnen. Innerhalb 10 Tagen wurde das Tier einer Reihe von Sitzungen unterworfen, die insgesamt eine Bestrahlungsdauer von $15^h 25'$ ausmachten; nach sechstägiger Pause folgte eine weitere Serie von Bestrahlungen von $6^h 35'$, die sich auf 3 Tage verteilte, so daß das Tier insgesamt 22 Stunden der Strahlenwirkung ausgesetzt war. Da nach der zweiten Bestrahlung Dermatitis der hinteren Extremitäten eintrat und das Tier enorm abnahm — (Nahrungsverweigerung, Unfähigkeit sich zum Wassernapf zu schleppen) — wurde es am 61. Beobachtungstage getötet.

Aus den beigegebenen Tabellen ist der Blutbefund vor, während u. nach der Bestrahlung zu ersehen. Es erwiesen sich die Werte für Erythrocyten durch das Experiment nicht beeinträchtigt; anders der Hb-Gehalt, der in der letzten Beobachtungsperiode durchschnittlich um 10 Proz. niedriger war als in der ersten. Merkwürdiger noch mag ein Verhalten des Hb sein, das gerade bei diesem Tier in Erscheinung trat. Die ca. einstündige Bestrahlung hatte eine Verminderung des Hb des Ohrvenenblutes um etwa 10 Proz. zur Folge; doch stieg der Hb-Wert bis zur nächsten Sitzung wieder so an, daß der Gedanke an einen Hb-Verlust in Wegfall kam.

Das Verhalten der farblosen Blutzellen nach der Milzexstirpation ist nichts Ungewöhnliches; allein in diesem Falle ist es nicht ganz eindeutig, da das Tier 2 Tage nach der Operation 5 unreife Foeten abortierte. Obgleich noch am 12. Tage nach der Operation (am 24. Beobachtungstage) ein Leukocytenwert von 18000 vorhanden war, wurde mit der Bestrahlung begonnen, die zunächst einen Leukocytenabfall, vom 28. Tage ab eine Vermehrung auf 27960 bewirkte, worauf ein neues Absinken zu bemerken war. Erst in der Regenerationszeit nach der 2. Bestrahlung trat wieder eine Zunahme der farblosen Elemente ein, die am letzten Tage mit 36000 ihren Höhepunkt erreichte.

Was die rel. Werte der farblosen Blutzellen anlangt, so fällt zunächst das allmähliche, dann und wann remittierende Ansteigen der pseudoeosinoph., polymorphkernigen Leukocyten auf, dann das Vorkommen echter, typ. gekörnter Myelocyten — wenn auch nur in sehr beschränktem Maße — gegen Schluß der Beobachtungszeit. Die ungekörnten, basophilen, mononucleären großen Zellen zeigen ein schwankendes Ansteigen; ebenso verhalten sich die Lymphocyten schwankend, die trotz eines paarmaligen blitzartigen Zurückschnellens zur Höhe, doch in einer absteigender Linie getroffen werden.

Versuch 1. (Hase I; weibl.) Blutbefund vor der Bestrahlung.

Dauer der einzelnen R.-Bestrahlung	Summe der bisherigen Bestrahlungszeit	Haemoglobin Proz.	Blutkörperchen		Polymorphkernige Leukocyten			Gekörnte, typische Myelocyten Proz.	Grosse mononucleäre basophile Zellen Proz.	Übergangsformen Proz.	Lymphocyten Proz.	Bemerkungen
			rote	farblose	pseudoeosinophil Proz.	basophil granul. Prz.	eosinophil Proz.					
—	—	70	5 000 000	11 000	38,9	2,2	,5	—	8,0	3,0	46,4	Gewicht des Tieres 2600 g
—	—	70	4 800 000	6 000	42,7	,0	,0	—	9,2	,5	34,6	Polychromatophile und Blutplättchen
—	—	71	4 950 000	6 900	38,5	1,9	,6	—	8,0		50,0	
—	—	73	4 930 000	7 000	42,0	9,4	0,4	—	7,3	,4	39,5	
—	—	71	4 800 000	4 800	41,5	5,9	0,2	—	6,0		46,2	
—	—	73	4 855 000	5 620	49,2	4,	0,2	—	4,2	,8	40,5	

…lbar nach der Blutuntersuchung am 12. Tage wurde die Exstirpation der Milz vorgenommen …rethan-Narkose. (20 g auf 30,0 g H_2O mittels Magensonde.) Am 14. Tage — also 2 Tage …r Operation abortierte das Tier 5 unreife, tote Foeten, deren Länge etwa 7—10 cm betrug. Glatte Heilung der Operationswunde.

—	—	72	5 150 000	18 400	57,0	11,3	4,6	—	13,0	0,6	13,5	Gew. 2350 g
—	—	70	5 400 000	17 000	47,6	7,7	8,6	—	12,3	0,7	23,1	Polychromatophile und Blutplättch.
—	—	75	5 150 000	17 500	54,0	8,5	6,5	—	6,5	0,5	24,0	
—	—	70	5 100 000	18 000	55,3	7,0	2,5	—	3,7	—	31,4	Gew. 2430 g

…such 1. (Hase I; weibl.) Blutbild während und nach der Bestrahlung.

Dauer der einzelnen Bestrahlung	Summe der bisherigen Bestrahlungszeit	Haemoglobin Proz.	Blutkörperchen		Polymorphkernige, granulierte Leukocyten			Typische Myelocyten Proz.	Große mononucleäre, basophile, ungranulierte Zellen Proz.	Übergangsformen Proz.	Lymphocyten Proz.	Bemerkungen
			rot	farblos	pseudoeosinophil Proz.	Mastzellen Proz.	eosinophil Proz.					
1 h	1 h	70	5 100 000	18 000	55,3	7,0	2,6	—	3,7	—	31,4	Siehe die Liste der Befunde vor d. Bestrahlung!
		60	5 300 000	9 000	66,7	3,6	2,0	—	3,6	0,8	22,5	Gew. 2430 g
1 h 15′	2 h 15′	70	5 260 000	10 200	75,0	3,3	1,7	—	4,1	0,8	15,1	
		60	5 150 000	10 600	64,5	2,0	1,5	—	2,1	2,5	29,0	

1) V. B. = v. B. = „vor der Bestrahlung".
2) N. B. = n. B = „nach der Bestrahlung".

Tag der Beobachtung	Dauer der einzelnen Bestrahlung	Summe der bisherigen Bestrahlungszeit	Haemoglobin Proz.	Blutkörperchen		Polymorphkernige, granulierte Leukocyten			Typische Myelocyten Proz.	Große mononucleäre, basophile, ungranulierte Zellen Proz.	Übergangsformen Proz.	Lymphocyten Proz.	Bemerkungen
				rot	farblos	pseudoeosinophil Proz.	Mastzellen Proz.	eosinophil Proz.					
26.	1 h 10′	3 h 25′	v.B. 70 n.B. 60	5 430 000	7 100	75,3	5,2	1,0	0,9	5,0	2,2	10,3	
27.	—	—	75	5 900 000	9 600	73,5	2,0	1,3	0,2	3,7	2,3	17,0	
28.	1 h 15′	4 h 40′	v.B. 80 n.B. 66	5 300 000	27 960	65,6	1,5	1,0	—	3,4	2,9	24,1	Vereinzelt einige Normoblasten m. pyknotischen Kerne
29.	1 h	5 h 40′	v.B. 65 n.B. 57	5 400 000	21 000	70,0	5,6	2,3	—	9,7	1,1	11,3	
30.	1 h 1 h 15′	7 h 55′	v.B. 70 n.B. 62	5 530 000	15 000	53,4	5,3	1,6	0,7	8,0	1,7	29,3	„
31.	1 h 30′	9 h 25′	v.B. 70 n.B. 60	5 300 000	13 600	72,0	4,0	0,3	—	4,0	3,7	16,0	
32.	1 h	10 h 25′	v.B. 70 n.B. 57	5 280 000	18 000	46,2	4,6	2,7	—	11,3	1,4	34,8	
33.	1 h 20′ 1 h 15′ 1 h 10′	14 h 10′	v.B. 70 n.B. 64	5 375 600	13 700	57,5	3,0	3,5	0,5	8,0	1,0	26,5	Haarausfall, namentlich im Bereiche der bestrahlten Partien
34.	1 h 15′	15 h 25′	66	5 580 000	17 000	67,0	4,4	0,5	—	4,0	0,5	22,6	
36.	Bestrahlungspause		65	5 000 000	9 000	61,7	2,5	2,8	—	11,6	0,7	21,5	
37.			65	5 350 000	12 000	55,3	6,6	0,1	—	19,3	3,0	15,7	Gew. 2250 g
40.	1 h 1 h	17 h 25′	v.B. 67 n.B. 47	5 800 000	10 000	61,2	4,4	2,0	2,4	7,6	5,8	16,6	
41.	1 h 15′	18 h 40′	v.B. 67 n.B. 55	—	9 600	78,7	2,7	—	0,5	6,8	2,0	9,3	
42.	1 h 10′ 1 h 1 h 10′	22 h	58	—	8 000	63,6	3,5	0,5	—	7,0	3,0	22,4	Wunde, nässende Hautstellen an den bestrahlten Partien; das Tier schont die hinteren Extremitäten auffallend, läßt sie lang ausgestreckt liegen
43.	Bestrahlungspause		60	—	11 000	65,0	1,0	1,2	1,3	18,4	1,2	11,9	
44.	—	—	60	—	12 400	72,6	1,3	2,1	—	12,0	2,5	9,5	Gew. 2110 g
49.	—	—	64	5 325 000	15 400	63,0	2,0	0,3	0,3	20,2	1,7	12,5	
52.	—	—	60	5 800 000	22 000	71,6	1,0	0,4	3,3	19,0	1,3	5,4	
55.	—	—	60	—	15 800	56,7	0,7	0,9	0,7	22,0	2,9	16,1	Gew. 1970 g
57.	—	—	57	—	18 400	70,0	1.3	0,7	2,6	18,8	1,2	4,6	Gew. 1810 g
59.	—	—	60	—	29 000	71,0	1,0	0,5	1,5	23,0	1,0	6,0	Das Tier nimmt auffallend viel Wasser zu sich Gew. 1620 g
61.	—	—	66	5 240 000	36 000	81,1	0,6	—	4,4	10,2	1,6	2,1	Hase wird mit Chloroform getötet.

Die Sektion des stark abgemagerten Tieres ergab:

Operationsnarbe etwas uneben; es besteht von der Narbe eine peritoneale Spange zum Magen hin.

Magen ist auffallend klein, fast leer; Pylorus kontrahiert; im Dünndarm minimale Menge eines dünnen Breies; Coecum etwas stärker gefüllt; im Verlaufe des Colons nimmt der Darminhalt an Consistenz zu, jedoch sind die Kot-Bällchen bedeutend kleiner und weicher als beim normalen Tier.

Leber ist ziemlich blutreich.

Nieren und Nebennieren ohne auffälligen Befund.

Mesenteriales Lymphdrüsenpaket ist wegen seiner Klein- it kaum zu finden, zeigt auf dem Durchschnitt graugelbe Farbe, die ndenzone um eine Spur heller.

Brustorgane ohne abweichenden Befund.

Knochenmark aus Diaphyse und Epiphyse der Röhrenknochen emur und Humerus!) zeigt graurote bis braune Farbe, ist zäh- ssig und kohärent.

Die mikroskopische Untersuchung ergab:

Leberausstriche zeigen die bei den letzten Untersuchungen des eres gefundenen Blutelemente, doch scheinen hier die mononucleären oßen basophilen, ungranulierten Zellen noch vermehrt. Unter ihnen len eine Anzahl von eigenartigen Formen auf, die bei May-Grünwald- rbung dunkles basophiles Protoplasma und scharf abgesetzten, hellen zentrischen kleinen Kern aufweisen.

Im Leber-Schnittpräparat finden sich in den mäßig bluterfüllten ıpillaren allerorts reichlich verstreut granulierte, polymorphkernige, und zu auch ein mononukleärer granulierter Leukocyt neben ıer Reihe diffus verstreuter, einkerniger, großer Zellen mit basophilem otoplasma. Außerdem sind zahlreiche kleine Herde in den Kapillaren beobachten, die aus Reihen oder Häufchen basophiler mononucleärer oßer Zellen mit dunklem, exzentrisch liegendem Kerne bestehen; lche Ansammlungen umfassen 3—7 Zellen. — Das die Gefäßdreiecke ıgebende Bindegewebe ist mit Rundzellen infiltriert, doch konnten ər keine Anhäufungen basophiler Zellen mit exzentrischem Kerne ahrgenommen werden. Die Leberzellen selbst zeigen allenthalben äßige Eisenpigmentierung.

Das Knochenmark der vorderen und hinteren Extremität läßt Ausstrichpräparat hauptsächlich gekörnte Myelocyten[1]), doch auch oße, mononucleäre, basophile Zellen erkennen; dazwischen auch Über- nge mit beginnender, manchmal amphophiler Granulation. Der Granu- rung nach überwiegen die pseudoeosinophilen Myelocyten, doch sind ch einzelne eosinophile aufzufinden. Unter den basophilen mono- cleären Zellen fallen wieder solche mit relativ kleinem, exzentrisch gendem Kerne auf, der sich bei May-Grünwald-Färbung heller, bei ımat.-Eosin-Färbung dunkler als das Protoplasma tingiert. Auch in

---

1) Es ist eigentlich ein Pleonasmus, von einem „gekörnten Myelocyten" zu echen, da der Begriff „Myelocyt" das Prädikat „gekörnt" an und für sich ein- ıließt. Gleichwohl spricht K. Ziegler in seiner bereits zitierten Arbeit „über Hystogenese d. myel. Leuk." von „ungekörnten Myelocyten", die er durch nnung des basophilen Protoplasmas noch näher kennzeichnet. Man kann se Bezeichnung nicht anerkennen, da es ja der im Blute und sonst wo vor- nmenden mononucleären, basophilen, ungranulierten, großen Leukocytenform ht anzusehen ist, was aus ihr wird; jedenfalls aber eignet sich der Nägeli- ıe Namen „Myeloblast" noch bedeutend eher für sie, als die eng umschriebene zeichnung „Myelocyt".

direkter Kernteilung werden solche Zellen angetroffen. Natürlich fehlen auch nicht Normoblasten, polymorphkernige Leukocyten aller Granulationen, einige Lymphocyten und Riesenzellen, die rote Blutkörperchen, Granula und ganze polymorphkernige Blutelemente in ihrem Leibe eingeschlossen halten. Außerdem sind die Ausstriche von einzelnen gelbbraunen bis blaugrünen Körnchen übersät, die als Eisenpigmentkörner zu deuten sind.

Im Schnittpräparat macht sich zunächst der Mangel an Fettzellen zwischen den Reticulumzügen bemerkbar. Die Blutsinus — namentlich im Mark der vorderen Extremität (nicht bestrahlt!) — sind stark gefüllt. Die Sternzellen der Reticulums sind nicht vermehrt, doch erscheinen die Fasern verändert, an manchen Stellen wie gequollen und zerflossen. Sie färben sich mit Hämat.-Eos. unklar, so daß das ganze Präparat einen diffusen, grauen Unterton erhält. Der Reichtum an Knochenmark-Blutelementen ist enorm, namentlich die auffallende Menge der Myelocyten; ferner sind zahlreiche große mononucleäre Zellen mit ungranuliertem hyalin erscheinendem Protoplasma und Mitosen dieser wie jener Elemente vorhanden. Riesenzellen werden mit 2 bis 10 und mehr Kernen angetroffen, was namentlich vom Mark der vorderen unbestrahlten Extremität zutrifft, in dem auf einem Gesichtsfeld (Seibert, Okular 2, Objektiv $^1/_{12}$ Öl.-Imm.) bis zu 8 Riesenzellen wahrzunehmen sind. — Durch das ganze Knochenmark (Humerus und Femur!) und zwar im Bereiche der Reticulumstränge, sind Anhäufungen von Pigment zu beobachten, die da und dort gegen den Rand, gegen die fibröse Hülle des Markes an Mächtigkeit zunehmen.

Die Mesenterialdrüsen scheinen im Markteile wie ausgepinselt, so daß allenthalben das Reticulum gut sichtbar ist. In den zahlreichen Follikeln der Rindenzone sind die Zellen in bedeutend lockerer Anordnung als man es bei Vergleichspräparaten vom normalen Tiere beobachtet. Namentlich machen einige Follikelzentren den Eindruck der Degeneration; es sind hier nur unklare Zellen mit hellem, unscharfem Kern, unregelmäßig begrenztem, trübem Protoplasmaleib zu sehen, die vielfach mit einander in Verbindung stehen und dem Reticulum angehören mögen. An den gelichteten und gelockerten Stellen finden sich verstreut zahlreiche polymorphkernige acidophile Zellen, selten ein Myelocyt; sowohl in den rarefizierten Follikeln, als im Markteile liegen ab und zu tief gefärbte Chromatinballen und pyknotische Überbleibsel von Zellen und Zellkernen mit homogenem Protoplasma. — zwischen den schon zutage tretenden Reticulumsträngen des Markes liegen außer kleinen Lymphocyten größere Zellen mit homogenem, graurötlichem Protoplasma (Hämat.-Eosin!) und exzentrischem, bläschenförmigem Kern. —

Versuch II. Männliches Kaninchen am 12. Beobachtungstage splenektomiert; durch Lösung einer Ligatur gestaltete sich die Operation etwas blutiger als gewöhnlich; gleichwohl erholte sich das Tier gut und zeigte am 18. Tage im Blute neben der postoperativen Leukocytose eine verschwindende Anzahl von Normoblasten mit kleinem wie geschrumpften Kern. Am 24 Tage wurde mit der Bestrahlung der hin-

teren Extremitäten eingesetzt worauf nahezu momentan der Leukocytenwert von 18000 auf 8000 fiel, um sich weiterhin in wechselnder, meist übernormaler Höhe zu halten. Das Blutbild nach der ersten sechsstündigen Bestrahlungsperiode mag übrigens dadurch etwas beeinträchtigt worden sein, daß sich aus der halbvernarbten Bauchwunde ein Seidenfaden eitrig abstieß — worauf nach oberflächlicher Inzision und Reinigung. die Wunde zur Heilung gelangte. . Eine zweite Bestrahlung von insgesamt 6^{h} — beide Perioden erstreckten sich auf je 2 Tage und wurden mit äußerst harten Röhren vorgenommen -- war am 43. Tage zu Ende. Von da ab gewann die Zahlenkurve der Leukocyten einen ziemlich steil ansteigenden Charakter, abgesehen von 2 Remissionen, so daß am 58. Tage der Höchstwert von 63000 Leukocyten erreicht wurde, der sich bis zum letzten Untersuchungstage auf 40 000 erniedrigte. Am 66. Tage verendete das Tier, das in den letzten Tagen so rapid abgenommen hatte, daß es fast bis auf die Hälfte seines ursprünglichen Körpergewichtes kam; auch litt es an ausgedehnter Dermatitis der hinteren Extremitäten; ebenso wie beim ersten, war bei diesem Tiere die große Menge des aufgenommenen Wassers gegenüber fester Nahrung in der letzten Woche bemerkenswert; Urinsekretion war stets reichlich.

Das ingesamt 12 Stunden bestrahlte Kaninchen ließ eine schließliche Verminderung der Erythrocyten innerhalb physiologischer Breite erkennen. Der Hb-Gehalt war wechselnd, im großen und ganzen konstant. Auffällig ist wiederum eine unmittelbar nach der Bestrahlung beobachtete Verminderung des Hb gegenüber dem Zustand vor der Sitzung, doch erreichte hier die Differenz keine so hohen Werte, wie beim vorher beschriebenen Falle, sie ging über 5 Proz. nicht hinaus.

Was die einzelnen Elemente der farblosen Blutzellen anlangt, so muß von den polymorphkernigen, pseudoeosinophilen Zellen gesagt werden, daß sie im Durchschnitt während der ganzen Zeit nach Herausnahme der Milz höhere Werte aufweisen als vorher, daß sich aber die Linie dieser höheren Werte mit Schwankungen auf einer Höhe hält. Nicht so die Mastzellen, die entschieden abnahmen; andrerseits stieg — namentlich in der zweiten Regenerationsperiode die Zahl der echten Myelocyten. Wechselnd, in der Hauptsache ansteigend, erscheinen die großen, ungranulierten mononucleären, basophilen Zellen, während sich die Lymphocyten in absteigender Linie bewegen.

Bei der Sektion fand sich eine unregelmäßige Vernarbung der Bauchwunde — ohne entzündliche Erscheinungen.

Magen klein, kontrahiert, fast leer; Dünndarm ebenfalls im Zustand geringster Füllung mit einem gelbbraunen, weichen Brei; im Verlaufe des Dickdarms einige Kotbällchen, jedenfalls in viel geringerer Zahl, Größe und Konsistenz als beim gesunden Tier.

Leber blutreich mit der pars pylorica des Magens verwachsen; Gallenblase normal gefüllt mit dunkelgrüner Galle.

Lymphdrüsenpaket an der Mesenterialwurzel leicht geschwellt; Marksubstanz der Drüsen etwas dunkler als die Rindensubstanz, enthält einzelne Blutpunkte.

Nieren, Nebennieren, Lunge und Herz lassen nichts Ungewöhnliches erkennen.

Knochenmark in Femur und Humerus erweist sich etwas zähe, gut kohaerent und rotbraun.

Mikroskopisch war festzustellen:

In den Leberausstrich-Präparaten viele Leukocyten und basophile, ungranulierte, mononucleäre Zellen nebst einigen spärlichen Myelocyten. Leberschnitt-Präparate zeigen in den Kapillaren zwischen den Leberbälkchen viel Blut und überall diffus eingestreute, pseudoeosinophile, polymorphkernige Leukocyten; auch einige Myelocyten sind vorhanden. Außerdem sind auch hier — aber nur diffus eingestreut — Zellen mit homogenem, basophilem Protoplasma und exzentrischem Kerne. Im periportalen Gewebe sind Rundzellen in wechselnder Zahl zu finden.

Knochenmarkausstriche (Humerus und Femur-Mark) enthalten sehr viele Normoblasten und große basophile ungranulierte einkernige Zellen neben einem großen Reichtum an Myelocyten. — In Schnittpräparaten erweisen Kapillaren und Blutsinus sowohl des bestrahlten (Femur) als unbestrahlten (Humerus) Markes sich stark gefüllt. Das Reticulum ist in seinem Faseranteil sehr verändert, insofern die

Versuch 2.

(Hase II; männlich). Blutbefund vor der Bestrahlung.

Tag der Beobachtung	Haemoglobin Proz.	Blutkörperchen rot	Blutkörperchen farblos	Polymorphkernige Leukocyten pseudoeosinophil Proz.	Polymorphkernige Leukocyten basophil granul. Proz.	Polymorphkernige Leukocyten eosinophil Proz.	Gekörnte, typische Myelocyten Proz.	Grosse mononucleäre basoph. Zellen Proz.	Übergangsformen Proz.	Lymphocyten Proz.	Bemerkungen
1. Tag	74	5 475 000	6 200	67,3	7,4	,0	—	2,5	0,3	21,5	Gew. 2475
2.	78	5 680 000	11 700	63,0	8,2		—	3,1	,2	22,8	Polychro- tophilie Blut- plättche
4.	72	5 237 500	11 100	65,7	3	7	0,5	3,0	,6	24,4	
5.	82	5 120 000	7 700	56,5	9	0,5	—	2,0		34,0	
6.	80	5 400 000	8 500	53,6	6,3		—	2,7	—	36,3	
9.	84	5 400 000	9 800	50,0	6,0	2,4	0,6	5,0		36,0	
10.	76	5 625 000	9 000	40,4	8,5		0,5	3,1	0,5	47,0	
11.	70	5 280 000	11 000	36,5	5,0	1,5	—	5,0	—	52,0	

Am 12. Tage Exstirpation der Milz unter etwas erschwerenden Umständen, da der eine Pol in mit dem Peritoneum des Magens verwachsen ist; infolge Risses einer Gefäßligatur stark Blutung. — Narkose 2,5 g Urethan auf 100 Wasser mittels Magensonde eingegeben.

Tag der Beobachtung	Haemoglobin Proz.	Blutkörperchen rot	Blutkörperchen farblos	Polymorphkernige Leukocyten pseudoeosinophil Proz.	Polymorphkernige Leukocyten basophil granul. Proz.	Polymorphkernige Leukocyten eosinophil Proz.	Gekörnte, typische Myelocyten Proz.	Grosse mononucleäre basoph. Zellen Proz.	Übergangsformen Proz.	Lymphocyten Proz.	Bemerkungen
18.	72	5 500 000	25 200	62,7	10,0	4,0	1,0	6,4	1,3	14,6	Ganz ve einzelt e Normobl zu sehe
21.	68	5 725 000	13 500	55,6	7,3	2,3	0,3	6,8	0,7	27,0	
23.	67	5 600 000	18 000	68,0	3,0	2,0	0,5	9,7	—	16,8	

Versuch 2.

(Hase II; männl.) Blutbefund unter und nach Bestrahlung.

Dauer der einzelnen Bestrahlung	Summe der bisherigen Bestrahlungszeit	Haemoglobin Proz.	Blutkörperchen rot	Blutkörperchen farblos	Polymorphkernige Leukocyten: pseudoeosinophil Proz	Polymorphkernige Leukocyten: basophil granul. Proz.	Polymorphkernige Leukocyten: eosinophil Proz.	Gekörnte typische Myelocyten Proz.	Grosse mononucleäre basoph. Zellen Proz.	Übergangsformen Proz.	Lymphocyten Proz.	Bemerkungen
—	—	67	5600000	18000	68,0	3,0	2.0	0.5	9,7	—	16,8	Siehe die Liste der Befunde vor Bestrahlung
1 h 15′		–										
1 h		v.B. 65										
1 h 15′	3 h 30′	n.B. 60	5300000	8000	65,6	7,3	7,3	—	15,4	1,0	10,0	Gewicht 2400 g
1 h 15′		v.B. 64										
1 h 15′	6 h	n.B. 59	5280000	15000	71,6	4,7	4,7	,0	7,5	3,6	6,9	
Bestrahlungspause		63	—	12100	75,3	6,0	1.0		4,0	.4	2,3	
—	—	65	—	12000	75.0	6,5	0 4		5,5	2,6	0,0	Ein Faden stösst sich aus der Bauchnarbe eiterig ab. Reinigung der Narbe, oberflächliche Inzision, Heilung im Verlauf von 5 Tagen
—	—	65	—	16400	67,9	5,6	0,8	),3	5,3	.4	18,5	
—	—	68	—	15400	68,5	4,0	1,0	0,3	12.2	2,7	,3	
—	—	70	—	20000	67,0	4,5	1,0		12,5	7,0	8,0	
—	—	65	—	18000	72,0	7,0	2.4	0,6	12,0	0,5	5,5	Haarausfall
—	—	72	—	11600	66,7	4,5	2.0	0,8	13,4	2,7	10,0	
1 h 15′												
1 h 15′												
1 h												
1 h 15′		v.B. 64										
1 h 15′	12 h	n.B. 60	4900000	15600	80,0	3,5	0,1	—	9.1	,0	6,0	Gewicht 2200 g
Bestrahlungspause		65	—	15200	70,6	5,0	0,7	0,2	17.4	,8	3.3	
—	—	70	--	13800	66,0	1,7	0,3	—	25,0	2,6	4.4	Dermatitis der hinteren Extremitäten
—	—	72	—	22400	71,0	4.5	1.0	0.5	19.0	0.5	3,5	Gewicht 2050 g
—	—	75	—	23600	65.6	1,7	1,0	1 0	25,3	1,4	4,0	
—	—	70	—	30000	63,5	2,0	2,0	4,6	20,3	2,1	5,5	
—	—	68	—	22000	81,5	1,5	1,0	3,0	7,0	2,5	3,5	Gewicht 1560 g
—	—	80	—	63000	80,0	1,0	0,5	4,3	10.0	1.7	2.5	Gewicht 1450 g
—	—	75	—	45000	74.5	1,5	—	5,5	13,2	3,3	1,0	Gewicht 1380 g
—	—	75	5075000	40000	69,0	0,3	0,5	3,7	22,1	2,0	1,4	Gewicht 1300 g

Spät abends verendet das Tier.

Fasern wie gequollen aussehen und mit Toluidinblau Mukoidreaktion geben, nicht aber mit Mucikarmin. Die Fettzellen zwischen den adenoiden Maschen sind verdrängt; dagegen sind in den Maschen, namentlich in den Randpartien Pigmentanhäufungen und pigmentführende Zellen zu finden. Von den Knochenmark-Blutelementen lassen sich überall Myelocyten, als auch besonders Normoblasten nachweisen.

Mesenteriale Lymphdrüsen erscheinen stark verändert, namentlich die Markzone. Das Reticulum tritt deutlich hervor und sieht aus, als sei es von seinem sonst reichen Zellinhalt befreit. Eine in Serien geschnittene Drüse läßt in der Tiefe etwas größeren Zellenreichtum der Markzone erkennen, als er weiter an der Oberfläche gefunden wird.

Zwischen den Reticulumsmaschen — auch in Verbindung damit — sind große, basophile, ungranulierte einkernige Zellen zu gewahren. Mitosen solcher Zellen sind spärlich vorhanden, öfter Zellen mit zertrümmertem Kern. Gelbbraunes Pigment liegt in Reticulumsfasern und freien Zellen in spärlichem Maße. — Die Follikel sind an Zellreichtum und Dichte recht verschieden. Es existieren Übergänge von völlig unversehrten Follikeln bis zu anderen, deren Zentren nur noch wenige Lymphocyten aufweisen; dafür treten Zellen zutage mit blassem, rundem bis ovalem Kerne, nicht leicht abgrenzbarem Protoplasma, das mit dem der anderen Zellen syncytial verbunden erscheint. Die Färbung dieser Zellelemente ist eine recht ungewisse, die ganze Partie sieht wie halbverdaut aus. Andere Follikel ließen nur in der Dichte etwas nach, so daß da und dort Lücken entstanden, durch die man eine wie epitheloid aussehende Reticulumzelle wahrnimmt; in der Umgebung und im Bereiche solcher Follikel sind oft Zellen mit Kerntrümmern zu finden. — Ein ähnliches Verhalten trifft auch für manche Markstränge zu, die überhaupt ein sonderbares Bild bieten. Einige sind voll von großen mononucleären Zellen, die oft geradezu wie in lockerer Epithellinie an den Rändern gegenüber dem Sinusendothel aufgereiht sind. Andere scheinen dagegen wieder in einem Stadium der Degeneration, Verödung zu sein; da sind freie Kerntrümmer, frei sichtbare Reticulumsabschnitte zu sehen und Stellen, wo sich zellige Elemente wie die Schalen einer Zwiebel konzentrisch zu schichten begannen. Sehr weit getrieben ist der Verödungs-Prozeß noch nicht. Ich sah auf Schnitten, die Organen von Tieren entstammten, welche H. Heineke bestrahlte, dies Phänomen viel bedeutender ausgeprägt. — Im Zentrum der „Zwiebel" liegen noch einige, nicht zu charakterisierende, nekrotische Zellen, in der Umgebung zahlreiche Zellen mit zerfallenem Kerne und Phagocyten. — Eine Lymphdrüse hat neben sehr stark angegriffenen Follikeln reichlich granulierte Zellen aufzuweisen mit polymorphem, selten mit einem dunklen, runden Kern. Die strotzend gefüllten, zuführenden Blutgefäße sind frei von diesen Elementen, die sich in der Randzone einiger Follikel und zwar am gehäuftetsten gegen den freien Drüsenrand lagerten; von hier aus sind sie weniger dicht, aber doch in Mengen gegen das Mark hinein zu verfolgen, wo sie teils diffus, teils in Strängen liegen. Anders ist es bei einer weiteren mesenterialen Lymphdrüse, in deren Rinde sich 3—4 kleine, völlig der Lymphelemente entbehrende Follikel finden, die mit pseudoeosinophilen Leukocyten vollgepfropft sind. Die Kerne dieser Leukocyten sind in der Mehrzahl pyknotisch und dunkel. Die Drüse wurde in Serien geschnitten, wobei sich herausstellte, daß lediglich die 4 kleinen Follikel umgewandelt und nur in beschränktem Maße in das benachbarte Drüsenmark polymorphkernige Zellen hinausgewandert oder gedrängt sind. Riesenzellen vom Charakter der Knochenmark-Riesenzellen fehlen. Außerhalb der Lymphdrüse, d. h. der umgewandelten Randpartie, liegen massenhaft Wanderzellen. Dieser ganze Befund muß wohl so aufgefaßt werden, daß die durch die Degeneration der Follikel entstehenden Produkte die Leukocyten anlockten, daß aber in der darauf folgenden Regenerationszeit diese Leukocyten selbst der Pyknose und Zertrümmerung anheimfielen.

Lunge, Nieren und Nebennieren ohne abweichenden Befund.

Versuch III. **Männliches Kaninchen nach viertägiger Beobachtung** der Milzexstirpation unterworfen; (Narkose durch 2,0 Urethan auf 50,0 H_2O mit der Magensonde gegeben war vollauf genügend). Nach reaktionsloser Heilung der Wunde wurde am 29. Tage mit der Bestrahlung der hinteren Extremitäten begonnen. Innerhalb 3 Tagen konnte eine Bestrahlungszeit von $8^1/_2$h erreicht werden, die nach einer Woche durch eine auf 5 Tage sich verteilende Bestrahlung von fast 10h auf insgesamt 18h ergänzt wurde. Das Tier bekam frühzeitig Haarausfall und unmittelbar nach der 2. Bestrahlung Dermatitis der hinteren Extremitäten, die sich in stark nässenden, von Haaren weit entblößten Stellen äußerte; es ließ die Beine nach hinten wie gelähmt liegen, war aber im Gebrauch derselben nicht behindert, wenn man es reizte seinen Standort zu verändern, was es torkelnd ausführte. Der Ernährungszustand ging mehr und mehr zurück, gegen das Ende entwickelte das Tier starken Durst. Die Urinsekretion war reichlich, der Kot wenig konsistent, oft geradezu breiig. Zwischen dem 64. und 65. Beobachtungstage ging das Kaninchen offenbar infolge Entkräftung zugrunde.

Die Blutuntersuchungen, deren Ergebnisse auf der umstehenden Liste verzeichnet sind, ergaben für das Verhalten der Erytrocyten vor und nach der Bestrahlung keinen nennenswerten Unterschied. Der Gehalt an Hb war während der Regenerationsperioden etwas höher als beim nichtbestrahlten, nicht operierten Tiere. Während der Einzelbestrahlung fiel wiederholt das Absinken des Hb auf — einmal sogar um 24 Proz.; um nicht etwa durch eine mangelhafte Technik bei der Hb-Bestimmung (Sahli) zu Fehlbefunden geführt zu werden, ließ ich gerade bei diesem Tiere meine Ergebnisse kontrollieren, ohne daß jedoch eine Änderung in den Befunden eintreten mußte. Das konstante Ansteigen des Hb-Wertes bis zur nächsten Sitzung war hier weniger ausgeprägt, wie in den vorigen Fällen.

Was die farblosen Blutzellen anlangt, so trat nach der Splenektomie langsam Leukocytose ein, die jedoch durch die 1. Bestrahlung zurückgedrängt wurde. Gegen Schluß der zweiten Degenerationszeit ist eine geringe Vermehrung der absoluten Leukocytenzahl wahrzunehmen, die jedoch physiologische Grenzen nicht überschreitet.

Der relative Wert für die Pseudeosinophilen war nach Beginn der Bestrahlung bis zum Tode höher als vorher, während von den Mastzellen gerade das Umgekehrte gilt und die Eosinophilen sich ziemlich gleich verhielten. Auch bei diesem Tiere traten nach den Bestrahlungen Myelocyten in sehr spärlicher Zahl auf. In der zweiten Regenerationsperiode macht sich eine ausgeprägte Vermehrung der großen, einkernigen, ungranulierten, basophilen Zellen kund, gegenüber den Lymphocyten, die bis zum Tode auf einen Wert von 2,4 Proz. herabgingen,

Ad. Versuch 3. Blutbefund vor, während und nach Bestrahlung.
(Hase V; männlich.)

Tag der Beobachtung	Dauer der einzelnen Bestrahlung	Summe der bisherigen Bestrahlungszeit	Haemoglobin Proz.	Blutkörperchen rot	Blutkörperchen farblos	Polymorphkernige, granulierte Leukocyten: pseudoeosinophil Proz.	Mastzellen Proz.	eosinophil Proz.	Typische Myelocyten Proz.	Große mononucleäre, basophile, ungranulierte Zellen Proz.	Übergangsformen Proz.	Lymphocyten Proz.	Bemerkung
1. Tag	—	—	65	5 557 000	8 000	60,5	5,2	2,0	—	4,3	—	28,0	Gewicht 20… Polychrom… philie: von Blutplättch…
3.	—	—	64	5 800 000	6 800	58,0	10,1	1,0	0,1	2,4	0,5	34,6	
4.	—	—	60	5 500 000	8 500	48,3	9,2	1,0	—	3,5	—	38,0	
5. Tag: Milzexstirpation unter Urethan-Narkose (2 g auf 50 ccm Wasser).													
9.	—	—	65	5 750 000	8 500	40,6	12,0	0,2	—	3,9	1,4	41,9	Glatter Ve… der Wundheilu…
15.	—	—	75	5 700 000	16 000	46,7	7,1	0,4	—	6,3	0,3	38,2	
17.	—	—	65	—	22 600	59,0	7,4	—	—	4,6	1.0	27,5	
19.	—	—	82	5 430 000	12 400	67,3	9,6	0,8	0,4	10,2	1,4	10,3	
29.	1 h 15′ 1 h 15′ 1 h 15′	2 h 30′	v.B. 102 n.B. 78	6 050 000	14 000	67,0	4,4	0,5	—	9,1	2,3	16,7	Beginn d… Bestrahlu…
30.	1 h 1 h	5 h 45′	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
31.	1 h 30′ 1 h 15′	8 h 30′	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	Bestrahlungspause												
32.	—	—	90	6 100 000	10 800	82,3	1,5	0,3	0,4	6,1	2,0	7,4	Beginnend… Haarausfall
35.	—	—	78	—	7 000	73,0	2,4	1,1	0,5	8,6	3,9	10,5	
39.	—	—	75	—	6 100	71,6	3,3	1,4	—	6,7	2,0	15,0	Gewicht 20…
41.	1 h 15′ 1 h 1 h 15′	12 h	v.B. 75 n.B. 73	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
43.	1 h — 45′	13 h 45′	v.B 72 n B. 68	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
45.	1 h 30′ 1 h 15′	16 h 30′	v.B. 78 n.B. 70	—	10 400	76,2	1,6	0,5	—	8,6	2,1	11,0	
46.	1 h — 30′	18 h	68	—	6 200	66,4	2,0	—	1,6	13,3	5,4	1,3	Starker Haarausfall
	Bestrahlungspause												
48.	—	—	72	—	7 600	64,2	1,7	1,0	1,0	22,0	4,9	5,2	Dermatitis Gewicht 190…
51.	—	—	70	5 980 000	7 200	53,0	5,3	2,7	—	24,4	4,3	0,3	
59.	—	—	70	—	10 000	54,1	4,2	—	1,7	27,8	6,	6,1	Gewicht 18… Schlaffes Hä… hängen und Ausstrecken h. Extr.
62.	—	—	65	—	12 500	62,1	3,5	1,0	2,5	23,9	4,0	3,0	
64.	—	—	68	—	10 000	62,5	2,1	0,5	1,7	28,3	2,5	2,4	Polydipsie Gewicht 180…

In der Nacht auf den 65. Tag starb das Tier.

Bei der Sektion ergaben sich, was **Magen, Darm** und **Leber** anlangt, dieselben Verhältnisse, wie beim ersten Tier. **Nieren** und **Nebennieren** waren blutreich, nicht verändert.

Mesenteriale Lymphdrüsen nicht geschwollen; auf Schnitten hebt sich von der grauen Marksubstanz die Rindenzone deutlich heller ab.

Knochenmark von roter Farbe, ziemlich flüssig, stellenweise jedoch zäher und gut kohärent.

Brustorgane ohne abweichenden Befund.

Mikroskopisch ließ sich feststellen:

Im Leberausstrich fällt die große Zahl großer mononucleärer, ungranulierter basophiler Zellen auf. Schnittpräparate der Leber zeigen nichts Absonderliches — außer den durch Blutfülle stark erweiterten Kapillaren, die — nicht in auffallender Weise — farblose Blutzellen mitten unter den roten diffus verstreut beherbergen.

Das Knochemark (aus Femur und Humerus) läßt im Ausstrich relativ nicht viel polymorphkernige Elemente erkennen, gegenüber den basophilen, mononucleären, großen Zellen und den Myelocyten, die in der Mehrzahl pseudoeosinophil granuliert sind. Mastzellen sind spärlich vorhanden; außerdem finden sich Normoblasten und Zellen vom Aussehen der Lymphocyten. — Schnittpräparate durch das Mark des Femur und des Humerus ergeben eine weniger weitgehende Veränderung als in den beiden ersten Fällen. Jedoch ist das Verhalten wechselnd: Neben Partien, die noch Fettzellen enthalten, imponieren andere mehr gegen den Knochenmantel oder gegen die Epiphysen gelegene Partien durch großen Reichtum an Knochenmarkselementen und Verdrängung der Fettzellen. Blutgefäße und Sinus sind stark gefüllt. Das Reticulum bietet keine Veränderungen dar; in seinen Strängen und Zellen sind da und dort Pigmenthäufchen anzutreffen. Die Vermehrung der Knochenmarkzellen bezieht sich vor allem auf polymorphkernige Granulocyten in den Maschen des Reticulums. Daneben sind ganze Zellgruppen anzutreffen, die nur der Erythropoese zu dienen scheinen, Zellen mit tiefgefärbtem Kern und blauem bis graurotem Protoplasmamantel. Die Myelocyten treten vor der Menge der polymorphkernigen Zellen etwas zurück, sind aber, wie man bei genauem Durchsuchen des Präparates leicht bemerkt, reichlich vorhanden und vielfach in Mitose begriffen. Mononucleäre, basophile, ungranulierte Zellen mit großem ovalen Kern, der mitunter auch exzentrisch liegt, sind ebenfalls nicht selten, im Gegensatz zu den spärlichen Riesenzellen. Freie Pigmentzellen sind nicht zahlreich vertreten, dagegen Zellen, deren Inneres von Kerntrümmern erfüllt ist.

In den mesenterialen Lymphdrüsen ist der Reichtum an Pigmentzellen, sowohl in Markzone als einzelnen Fallikeln auffallend. Manche quergeschnittene Markstränge der sehr blutreichen Drüse scheinen mit Pigmentträgern ganz erfüllt zu sein. Unter den Pigmentzellen sind solche vom Endotheltypus nicht selten zu erkennen (länglicher Kern). An der Markzone bemerkt man wieder reichlich große, basophyle, mononucleäre, ungranulierte Zellen, sowohl in den Lymphräumen als in den Marksträngen. Dabei sind, namentlich gegen die Follikel hin, in denen sie auch vorkommen, große basophile Zellen mit zerfallenem Kern zu sehen. Die Zentren einiger Follikel sind auffallend hell und arm an Lymphocyten, unter denen sehr kleine und auffallend dunkle Formen vorkommen. An manchen Follikelstellen liegt das Reticulum klar und unverletzt zutage. Diffus und spärlich eingestreute Leukocyten zeigen kein auffallendes Verhalten. — Die Drüsen machen im ganzen einen dichteren und zahlreicheren Eindruck, als die bei den ersten Tieren aufgefundenen.

Nieren, Nebennieren und Brustorgane zeigen keine Veränderungen.

Versuch IV. Männliches Kaninchen nach Feststellung seiner normalen Blutwertes am 5. Beobachtungstage splenektomiert. Da die Narkose (2,0 Urethan auf 50,0 H_2O) nicht ausreichend war, wurde die Betäubung durch einige Tropfen Äther vervollständigt. Die Wunde heilte reaktionslos. Nach der Operation trat Leukocytose ein, die aber zurückging, bis am 33. Tage mit der Bestrahlung eingesetzt wurde Diese wurde in 3 Perioden durchgeführt, wobei zuerst innerhalb 4 Tagen 10^h, nach einwöchiger Pause innerhalb 2 Tagen 4^h, endlich nach 3 wöchiger Zwischenzeit innerhalb 2 Tagen noch 6^h Strahlenwirkung erreicht werden konnten, insgesamt 20^h. In der 3. Regenerationsperiode starb das Tier, das bereits Wochen vorher Hauterscheinungen aufwies. Wieder trat gegen Schluß eine schnelle Gewichtsabnahme ein, bei geringer Zufuhr fester Nahrung, während eine enorme Gier nach Wasser zutagetrat. Am 86. Tage wurde das Tier tot in seinem Behälter aufgefunden.

Die Blutuntersuchungen ergaben: Die Erythrocyten gehen nicht über die Grenzen der physiol. Breite herunter, wenn auch die letzte Zählung die niederste Zahl der ganzen Reihe aufweist. Der Hb-Gehalt schwankt, er ist in den letzten 14 Tagen konstant etwas geringer als vor der Operation. Die unmittelbar bezw. nach einer Bestrahlung angestellten Hb-Untersuchungen ergaben im Gegensatz zu den anderen 3 Tieren nicht eine Reduzierung des Hb-Wertes, sondern zweimal eine Konstanz und einmal eine geringe Eröhung (2 %). Ein Ansteigen des Hb nach der einzelnen Bestrahlung konnte hier absolut nicht festgestellt werden

Die Reihe der absoluten Leukocytenzahlen zeigt eine sehr schwankende, am Ende auf die Anfangshöhe zurückgehende Linie, die nur einigemale an und über die obere Grenze des normalen Leukocytengehaltes hinausgeht.

Was die relative Menge der einzelnen farblosen Blutelemente angeht, so stiegen die polymorphkernigen Pseudoeosinophilen mit

Versuch 4. Blutbefund vor der Bestrahlung.
(Hase VII; männlich.)

Tag der Beobachtung	Haemoglobin Proz.	Blutkörperchen		Polymorphkernige granulierte			Typische Myelocyten Proz.	Grosse monon. basophileungr Zellen Prz.	Übergangsformen Proz.	Lymphocyten Proz.	Bemerkung
		rot	farblos	pseudoeosinophil Proz.	basophil Proz.	eosinophil Proz.					
1.	70	5725000	9000	43,6	6,0	4,2	—	1,2	—	45,0	Polychromat
3.	70	5700000	12400	45,5	10,3	3,5	—	1,5	0.5	38,7	phile u.
4.	72	5400000	8100	51,6	7,5	1,0	—	2,7	1,5	35,7	Blutplättch Gewicht 26
Am 5. Tage Milzexstirpation unter Urethan-Narkose (2 g auf 50 g H_2O), die durch ein paar Tropfen Äther verstärkt werden musste.											
10.	58	5600000	18000	37,5	10,6	—	—	3,7	2,1	45,6	Wunde ist
12.	67	6400000	15000	36,0	15,0	1,0	—	5,2	0,8	42,0	zu glatt ver
16.	65	—	12500	26,0	14,3	2,0	—	5,7	2,6	49,4	
32.	65	6200000	9500	40,3	6,7	3,6	—	15,8	2,9	30,7	Gewicht 2

Versuch 4.
Blutbefund während und nach der Bestrahlung.
(Hase VII; männlich.)

…obachtung	Dauer der einzelnen Röntgen-bestrahlung	Summe der bisherigen Be-strahlungs-zeit	Haemoglobin Proz.	Blutkörperchen rot	Blutkörperchen farblos	Polymorphkernig granuliert: pseudoeosinophil Proz.	Polymorphkernig granuliert: barophil Proz.	Polymorphkernig granuliert: eosinophil Proz.	Typische Myelocyten Proz.	Große mononu. basoph. ungran. Zellen Proz.	Übergangsformen Proz.	Lymphocyten Proz.	Bemerkungen
.	—	—	65	6 200 000	9510	40,3	6,7	3,6	—	15,8	2,9	30,7	Gew. 2450 g
	1 h 15′												
.	1 h 15′												
d	1 h 15′	5 h	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
.	1 h 15′												
	1 h 15′		v.B. 60										
.	1 h 15′	7 h 30′	n.B. 57	5 800 000	12 200	41,5	5,1	3,4	—	26,6	1,3	22,1	
	1 h 15′		v.B. 65										
.	1 h 15′	10 h	n.B. 65	—	12 600	40,0	2,1	0,7	0,2	27,6	5,7	23,7	Gew. 2400 g
	Bestrahlungspause												
.	—	—	60	—	12 000	40,2	2,7	—	—	29,7	5,4	23,0	
.	—	—	68	—	11 200	41,1	1,4	0,7	0,3	13,1	3,4	40,0	Ein kern-
.	—	—	68	5 630 000	15 200	49,7	2,1	2,5	2,2	21,2	4,8	17,5	haltiges rotes
	1 h												Blutkörperch.
.d	1 h												
	1 h		v.B. 65										
.	1 h	14 h	n.B. 67	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	Bestrahlungspause												
.	—	—	60	5 525 000	16 000	60,1	5,8	1,0	1,3	21,7	1,5	8,6	Haarausfall
.	—	—	65	—	10 000	61,1	2,7	1,1	1,0	23,1	4,4	6,6	
.	—	—	68	—	15 200	62,0	2,3	1,0	1,0	27,6	2,2	3,7	Beginnende
.	—	—	70	—	15 300	58,5	2,0	1,1	0,3	29,0	2,6	6,5	Dermatitis;
.	—	—	70	—	16 400	68,0	1,4	—	0,6	19,2	2,5	8,3	Diarrhoeen
.	—	—	74	5 400 000	14 000	50,2	2,3	0,6	0,5	31,9	5,4	9,1	
.	—	—	68	—	15 000	68,5	2,0	0,7	0,8	19,0	1,8	7,2	
.	—	—	65	—	12 000	66,3	1,3	0,5	—	16,6	3,4	12,9	
.	—	—	62	—	8 000	67,1	1,4	0,2	0,5	18,7	2,0	10,1	
.	—	—	64	—	12 800	65,0	0,4	0,1	0,7	17,0	4,5	11,0	
.	—	—	68	—	13 200	68,2	1,2	—	0,6	16,3	2,4	12,3	Gew. 1800 g
	1 h												
	1 h		v.B. 62										
.	1 h	17 h	n.B. 62	5 083 000	10 600	73,5	2,1	—	0,5	15,0	3,6	5,3	
	1 h												
	1 h		v.B. 65										
.	1 h	20 h	n.B. 64	—	13 800	84,1	1,0	—	1,0	10,7	1,1	2,1	Gew. 1770 g
	Bestrahlungspause												
.	—	—	64	—	10 800	78,7	1,2	0,3	0,8	11,6	2,3	5,1	
.	—	—	65	—	9 600	69,3	1,5	0,2	1,3	21,6	4,3	1,8	Gew. 1650 g

…uf 86: Hase verendet in der Nacht.

leichten Remissionen an, die Mastzellen und Eosinophilen nahmen ab. Wieder zeigte das bestrahlte Tier Myelocyten, die in den letzten 30 Tagen mit niederem Werte nahezu konstant auftraten. Die großen, basophilen, ungranulierten, einkernigen Zellen verhielten sich recht schwankend, zeigten aber im allgemeinen höhere, ja einzelne auffallend hohe Werte, namentlich in der 2. Regenerations-

periode (31,9 Proz.!). Die Lymphocyten nahmen auch hier ab, um bei der letzten Untersuchung nurmehr einen minimalen Wert zu repräsentieren. Die äußerst spärlich gefundenen Normoblasten sind wohl ohne Belang (am 43. und 45. Tage), da ja auch gelegentlich am Blute des normalen Tieres der gleiche Befund erhoben wird.

Die Sektion des äußerst abgemagerten Tieres ergab für Magen-Darmtraktus, Leber, Nieren, Nebennieren und Brustorgane einen Befund, wie er bei den anderen Versuchstieren niedergelegt ist.

Die mesenterialen Lymphdrüsen waren in einem wenig umfangreichen Pakete vereinigt, das keine Besonderheit bemerken ließ.

Das Knochenmark der Röhrenknochen war dunkelrot, blutreich, sehr zähe und kohärent.

Bei der mikroskopischen Untersuchung wurde festgestellt: Leberausstriche enthalten viele große, basophile, mononucleäre ungranulierte Zellen, wenig Lymphocyten gegenüber reichlicher Anzahl von polymorphkernigen Pseudoeosinophilen. Schnittpräparate der Leber zeigen in den Leberkapillaren etwas Blut, in dem viele weiße Blutkörperchen auffallen. Sehr selten sind Häufchen von mehreren enge beisammen liegenden, großen, basophilen, ungranulierten, mononucleären Zellen zu sehen — ähnlich den im ersten Falle beschriebenen. In dem die Gefäße umgebenden Bindegewebe sind Rundzellen diffus verstreut.

Das Knochenmark namentlich auch der nicht der Strahlenwirkung ausgesetzten Extremitäten zeigt im Ausstrich viel polymorphkernige, pseudoeosinophil und auch eosinophil granulierte Zellen und Myelocyiten derselben Körnung; außerdem sind Mastzellen vorhanden und basophile ungranulierte Zellen mit einem runden bis ovalen, auch gebuchteten und exzentrischen Kerne — von Lymphocytengröße bis zu großen und hellen Formen, in denen sich sehr selten einmal beginnende Granulierung auffinden läßt. — In Schnittpräparaten (durch Femur und Humerus-Mark) erscheinen die Reticulumfasern wie gequollen, sehen verschwommen aus und geben Toluidin-, sowie Mucicarmin-Reaktion; auch im Zellwert ist das Reticulum etwas vermehrt, während die Fettzellen fast gänzlich verdrängt sind. Gefäße und Bluträume sind stark von Blut erfüllt. Die Knochenmarkelemente sind vermehrt und zwar in den polymorphkernigen als hauptsächlich in den mononucleären granulierten Formen. Es sind mehr Myelocyten vorhanden als ungranulierte, basophile, einkernige Zellen. Namentlich an den endostalen Partien der Schnitte finden sich ganze Kolonien von Myelocyten. Mononucleäre basophile Zellen und Normoblasten sind reichlich vorhanden, treten aber gegenüber den granulierten Zellen mehr in den Hintergrund. Mitosen sind nicht viele zu beobachten, dagegen größere Zellen mit homogenem, basophilem Leibe, der von ganz dunklen Kerntrümmern erfüllt ist. Die Schnitte sind reich an Riesenzellen, die allenthalben im Marke diffus verstreut liegen. Pigment ist in den Maschenzügen des Reticulums in Häufchen gelagert, seltener in Reticulumzellen eingeschlossen.

Die Lymphdrüsen zeigen nur sehr geringe Veränderungen. Völlig intakt erscheinen die Rindenpartien, während im Marke das Reti-

culum gut erkennbar ist. Seine Maschen enthalten viele Zellen, die größer als Lymphocyten sind und in homogenem und basophilem Protoplasma intensiv dunkel gefärbte Kernstücke oder Kernfiguren von abenteuerlichster Form enthalten. Die Reticulumzüge zeigen viel freies Pigment, aber nicht in auffälliger Weise. Vereinzelt sind granulierte Leukocyten in das Mark eingestreut, da und dort eine stark pigmenthaltige Zelle mit länglichem Kerne nach Endothelart. Vereinzelt werden basophile Zellen mit Mitosenfiguren getroffen. —

In der Basis der Darmfollikel (Appendix) fallen Haufen von großen, exzentrisch-kernigen (— kleiner runder Kern —) Zellen mit grauem bis braunem, feinstäubigem Pigment im Protoplasma auf.

Es muß noch angefügt werden, daß alle der hier untersuchten Tiere Parasitismus von Coccidium cuniculi aufwiesen. Die Cysten des Parasiten waren teils am Netz, teils am Darmgekröse zu finden.

Zusammengefaßt ist das Resultat unserer Versuche folgendes: Wir haben durch Bestrahlung der Hinterläufe von Kaninchen denselben Blutbefund hervorgerufen, den Kurt Ziegler bei seinen Untersuchungen gefunden hat: Wir haben in einem gewissen Zeitpunkt nach der intensiven Strahlenwirkung eine Vermehrung der zirkulierenden Leukocyten, eine qualitative Änderung des Blutbefundes und eine Hyperplasie des nicht direkt der Strahlenwirkung ausgesetzten Knochenmarks beobachtet. Der Unterschied der Zieglerschen und unserer Versuchsanordnung liegt aber darin, daß unseren Tieren die Milz fehlte, gerade dasjenige Organ, in dessen Follikeldegeneration infolge der Bestrahlung Ziegler die Ursache der Blut- und Organveränderungen erblickt.

Wenn man wirklich die noch genauer zu besprechende Blutveränderung als leukaemisch bezeichnen wollte, so müßte man also zugeben, daß sie ebenso gut wie nach Bestrahlung der Milz (Ziegler), so auch nach Bestrahlung anderer Körperstellen bei fehlender Milz zu Stande kommen kann. In der Milz kann demnach die Ursache dieser „leukaemischen“ Blutbefunde nicht gelegen sein.

Gegen unsere bisherige Deduktion ließe sich der Einwand erheben, daß eben das Besondere der Zieglerschen Versuche darin liege, daß die Milz bestrahlt wurde und daß hiernach eine Reaktion in einem anderen Organsystem, dem Knochenmark aufgetreten sei, daß die Bestrahlung des Knochenmarkes selbst aber, wie sie in unseren Versuchen vorgenommen wurde, natürlicherweise zu einer Hyperplasie dieser Organe führen könne. Nicht darauf, daß man auf andere direkte Weise dasselbe erzielen könne, wie durch Milzbestrahlung komme es an, sondern darauf, daß eben auch die Bestrahlung der Milz diesen Effekt hervorrufe. Hierauf ist jedoch zu erwidern, daß Ziegler nicht die Milzbestrahlung als solche

für das auslösende Moment zur Entstehung seiner „Leukaemie“ hält, sondern die durch die Bestrahlung hervorgerufene Follikeldegeneration. In dem Schwund dieser Elemente, gleichgültig aus welchem Grunde, liegt nach ihm der „Reiz“ für das Knochenmark. Es ist zwar eine interessante und von Ziegler zuerst gefundene neue Tatsache, daß nach isolierter Milzbestrahlung sich Veränderungen im Knochenmark abspielen, aber diese Beobachtung steht durchaus im Einklang mit allem, was man bereits über die Fern- oder Allgemeinwirkungen der Röntgenstrahlen weiß. Durch die zahlreichen Untersuchungen, die sich an die Diskussion über die Wirkung der Röntgenstrahlen nach den Beobachtungen von H. Heineke, Helber und Linser[1]) u. a. m. angeschlossen haben, geht jedenfalls soviel als sicher hervor, daß durch isolierte Bestrahlung bestimmte Körperteile auch auf die dem Strahleneinfluß nicht direkt unterworfenen Organe eine „leukotoxische“ Wirkung ausgeübt wird. Unsere Versuche ergeben hierfür dadurch neue Beweise, daß sich in den durch Blenden geschützten Mesenterialdrüsen degenerative Prozesse vorfanden, daß das Knochenmark der gut geschützten vorderen Extremitäten sich in einem Zustande von Hyperaemie und Hyperplasie befand, so daß hier die Fettzellen des Marks fast durchweg verschwunden waren. Hiernach ist die Annahme Zieglers, daß in seinen Versuchen eine alleinige Schädigung der Milz erzielt worden sei, außerordentlich unwahrscheinlich. Eine auf irgend einen Teil des haematopöetischen Apparate einwirkende Bestrahlung muß auch auf die anderen Teile respektive Organe ihre Wirkung erstrecken.

Wenn wir hiernach in der Milzdegeneration nicht die Ursache des „leukaemischen“ Befundes erblicken können, so ist nun die weitere Frage aufzuwerfen, und an Hand unserer Beobachtungen zu prüfen, ob der so bezeichnete Blutbefund wirklich „leukaemisch“ genannt werden darf. Hier ist zunächst zu betonen, daß sowohl in Zieglers wie in unseren Versuchen gewisse Blutzellen des normalen Kaninchenblutes in stark vermehrter Menge im Blute gefunden werden (große, mononucleäre, ungranulierte Formen) daß aber bei allen Formen echter Leukaemie pathologische unreife Leukocytenelemente, eben Markzellen, das Charakteristische des Befundes sind. Wie schon erwähnt, nennt Ziegler die bei seinen Versuchen in vermehrter Menge auftretenden Zellen „Myelocyten“. Damit entfernt er sich von dem, was man in der menschlichen

1) Literaturangaben bei: Krause u. Ziegler, Exp. Untersuchungen über die Einwirkg. der R.-Strahlen auf tierische Gewebe. Fortschritte auf d. Gebiet der Röntgenstrahlen. Bd. X.

athologie mit diesem Namen bezeichnet; aber auch beim Kaninchen, vie übrigens auch beim Hund, Meerschweinchen und vielen anderen Tieren, sind als Myelocyten spezifisch granulierte Zellen mit einem ıngelappten Kern anzusehen. (Vergl. hierzu unsere Abbildungen Tafel I). Ziegler muß diese Inkongruenz wohl aufgefallen sein, lenn er nimmt an, daß die in Frage kommenden ungranulierten Zellen unreife Myelocyten seien. Hierfür hat er keinen Beweis erbracht und unsere Beobachtungen sprechen direkt gegen diese Anahme. In allen denjenigen Fällen, in denen man bei menschlichen Leukaemien ungranulierte Vorstufen der Myelocyten im Blute findet, gelingt es leicht, im Blut oder den Organen Übergänge zu den Myelocyten festzustellen [1]). Bei unseren Tieren fehlten solche Übergänge gänzlich, obwohl einzelne Myelocyten im Blute zirkulierten. Wir ıaben vielmehr Anhaltspunkte dafür, daß die ungranulierten mononucleären Zellen des Kaninchenblutes mit den „großen mononucleären Zellen" Ehrlichs in den sogenannten „Übergangsformen" identisch ind. Über die Abstammung dieser Zellen herrscht in der Literatur lurchaus keine Übereinstimmung, jedenfalls geht es nicht an, sie infach als Vorstufen der Myelocyten anzusehen. Es ist bekannt, laß die genannten Zellen von manchen Autoren als „Splenocyten" bezeichnet werden, indem angenommen wird, daß sie normaler Weise aus der Milzpulpa stammen. In unseren Versuchen haben vir dieselben Zellen in vermehrter Menge in den nach Milzexstirpation hyperplasirten Lymphdrüsen gefunden, eine Tatsache, die viederum mit der menschlichen Pathologie in Übereinstimmung steht. Es scheint hiernach, daß diese Zellen nicht nur in der Milz, sondern ıuch im interfollikulären Gewebe der Hauptdrüsen gebildet werden können, was uns nicht verwundern darf, da die ähnliche Potenz les betreffenden Haupdrüsengewebes mit der Milzpulpa ja aus ınderen Untersuchungen zur Genüge evident erscheint. (Erich Meyer ınd A. Heineke [2]); Butterfield).[1])

Wenn schon eine Analogie der von Ziegler und uns beobachteten experimentellen Blutbefunde zur menschlichen Pathologie erhoben verden soll, so scheint sie uns vielmehr in der von L. Hauck [3]) im weiten Stadium der Lues häufig gefundenen Vermehrung der großen

1) Vgl. hierzu: Butterfield, „Über die ungran. Vorstufen der Myelocyten" usw. D. Arch. f. kl. Med., 92. Bd., 1908.

2) E. Meyer und A. Heineke, „Über Blutbildung bei schweren Anämien ınd Leukämien". D. Arch. f. klin. Med., 88. Bd., 1907.

3) Leo Hauck, Über das Verhalten der Leukocyten im II. Stad. der yphilis vor u. nach Einleitung der Hg-Therapie." Habilit. Schr.; Erlangen 1905.

mononucleären Zellen zu liegen. Die Beziehung aller dieser Befunde wurde hergestellt durch die nach Milzexstirpation, nach Knochenmark- und nach Milzbestrahlung sich einstellende Drüsenreizung respektive Drüsenhyperplasie und durch die bei Lues so häufige Hyperplasie desselben Organsystems.

Nach alledem erscheinen uns Zieglers und unsere Befunde nur ein besonderer Fall der allgemeinen Erscheinungen zu sein, die sich nach Einwirkung der Röntgenstrahlen einstellen können. Da es bekannterweise infolge der Bestrahlung gerade zu dem Gegenteil der hier beobachteten Zustände, statt zu Leukocytose zu Leukopenie und statt zu Organhyperplasie zu vollkommener Degeneration des gesamten Parenchyms auch nicht direkt bestrahlter Organe kommen kann, so ist es höchst wahrscheinlich, daß die hier beobachtete Leukocytenvermehrung und Organhyperplasie von der nach der intensivsten Strahlenwirkung vergangenen Zeit abhängig ist — mit anderen Worten, den Ausdruck der reparatorischen Reaktion gegen vorausgegangene Schädigung darstellt. Wie dem aber auch sei, so viel ist sicher, dem von Ziegler als leukaemisch bezeichneten Blutbefund darf diese Bezeichnung nicht gegeben werden,

Aus allen den besprochenen Gründen erscheint es bisher unberechtigt, von der Einwirkung der Röntgenstrahlen auf Tiere einen Schluß auf die Histogenese der menschlichen Leukämie zu ziehen; insbesondere liegt nach den vorliegenden Versuchen kein Grund vor, in einer gestörten Beziehung zwischen Milz und Knochenmark die Ursache der Leukaemie zu erblicken.

Zum Schluß sei mir noch gestattet, Herrn Dr. Erich Meyer und Herrn Dr. Albert Heineke für die mir von ihrer Seite zuteil gewordene Anregung und Unterstützung bei der Bearbeitung des Themas verbindlichst zu danken.

Erklärung der Abbildungen auf Tafel I.

Farblose Blutzellen des Kaninchens. (Zeiß Oc. 2, Obj. $\frac{1}{12}$ Immers., Tub. 160 mm.)

Technik: Figg. 1—17: Tingierung mit eosinsaurem Methylenblau nach Jenner-May. Figg. 18—24: Hitzefixation, Färbung mit Pappenheims Methylgrün-Pyronin.

Fig. 1: Amphophiler Myelocyt; Fig. 2: Pseudoeosinophiler Myelocyt; Fig. 3: Eosinophiler Myelocyt; Fig. 4: Basophiler Myelocyt (Mast-Myelocyt); Figg. 5 u. 6: Polymorphkernige, pseudoeosinophile Leukocyten; Fig. 7: Polymorphkerniger, eosinophiler Leukocyt; Fig. 8: Mastzelle; Figg. 9—11: Große mononucleäre, ungranulierte, basophile Zellen; Figg. 12—14: Übergangsformen; Figg. 15—17; Lymphocyten; Fig. 18: Pseudoeosinophiler Myelocyt: Fig. 19: Pseudoeosinophiler Leukocyt; Fig. 20: Eosinophiler Leukocyt; Fig. 21: Mastzelle; Figg. 22 u. 23: Große mononucleäre, ungranul., basophile Zellen mit Kernkörperchen; Fig. 24: Lymphocyt.

XVII.

Aus der II. medizinischen Klinik München (Direktor: Professor Friedrich Müller) und der Prosektur des Krankenhauses R. d./J.

Über Blutbildung in Milz und Leber bei experimentellen Anämien.

Von

Dr. A. von Domarus.

(Mit Tafel II, III).

Seit den Arbeiten Neumanns über die Bildungsstätte der roten Blutkörperchen gilt allgemein das Knochenmark als das allein blutbildende Organ des erwachsenen Körpers, wenigstens für die Zeiten normalen Blutverbrauchs und normaler Blutneubildung. Es fragt sich aber, und diese Frage ist bereits mehrfach aufgeworfen worden, ob unter pathologischen Verhältnissen, d. h. bei gesteigertem Blutzerfall oder -Verlust und dementsprechend gesteigerter Neubildung das Knochenmark allein diese Funktion erfüllt, oder ob unter bestimmten Verhältnissen auch noch andere Organe unterstützend oder vikariierend an der Blutregeneration mitwirken können.

Anhaltspunkte hierfür sind schon seit langer Zeit bekannt. So weiß man, daß nach stark anämisierenden Einflüssen die Milz Veränderungen erfahren kann, die auf blutbildende Tätigkeit hinweisen.

Zuerst zeigten Bizzozero und Salvioli 1881 an der Hand von Versuchen an Meerschweinchen, daß es gelingt, im Gefolge von Aderlässen bei Tieren eine Umwandlung der Milzpulpa zu erzielen, die für eine lienale Hämatopoese spricht. Über die näheren histologischen Details lassen sich die beiden Forscher nicht weiter aus. Zu ähnlichen Resultaten gelangten Howell (1888) mit Hilfe von Aderlaßanämien bei Katzen, Popoff (1892) mit Blutgiftanämien; auf demselben Wege Mya, Foà vermittelst Unterbindung der Vena splenica[1]). Eliasberg[2])

1) Grawitz, Pathologie des Blutes, 1906. Nägeli, Blutkrankheiten und Blutdiagnostik, Leipzig 1907. A. Noll, i. Ergebn. d. Physiol., 2. Jahrg., 1903. A. Oppel, Zentralbl. f. allgem. Pathol., 1892.

2) Eliasberg Miron, Blutbildung in d. Milz, I.-D., Dorpat 1893.

beobachtete unter Barfurths Leitung an Hunden und Katzen die interessante Tatsache, daß die als Hämatopoese anzusehenden Veränderungen der Milz im Anschluß an Aderlässe in besonders hohem Maß sich nach Resektion eines Stückes der Milz fanden; und zwar sah Eliasberg massenhaft kernhaltige rote Blutkörperchen in den Pulpasträngen, besonders in der Nachbarschaft der Venen. Grünberg und Dominici kamen zu ähnlichen Resultaten. Auch Heinz[1]) beobachtete an Kaninchen, die unter der Wirkung von Blutgiften standen, unter bestimmten Verhältnissen eine zweifellose Beteiligung der Milz an der Erythropoëse.

Dabei kommt er zu dem merkwürdigen Resultat, daß man hauptsächlich dann positive Ergebnisse erhält, wenn der Untergang der roten Blutkörperchen ein sehr rapider ist. Dies ist die einzige Angabe, über die Abhängigkeit des Zustandekommens derartiger extramedullärer Veränderungen vom „klinischen" Verlauf der Anämie.

Beim Menschen wurden lienalen Erythropoese von Foà und Pellacani bei sekundären Anämien, von A. Wolff, Engel, Erich Meyer und A. Heineke bei perniciöser Anämie; ferner u. a. von Kurjuweit bei Knochencarcinom, von Nauwerck bei Osteosklerose konstatiert.

Über die Rolle der menschlichen Leber bei der Blutbildung im extrauterinen Leben war bisher wenig bekannt und die spärlichen Angaben beziehen sich auf myeloide Leukämien, nicht auf Anämie. Erst in der letzten Zeit wurden einzelne Beobachtungen publiziert, wonach sowohl erythro- wie leukoblastische Funktionen der Leber bei verschiedenen, das Blut schädigenden Erkrankungen zuzukommen scheinen.

Hierher gehören 2 Fälle Askanazys von Carcinommetastasen im Knochenmark und ein Fall von allgemeiner Osteosclerose. Die dabei als weißliche Herde imponierenden Veränderungen im Lebergewebe waren Zellanhäufungen in den sackartig erweiterten Leberkapillaren und bestanden aus typischen Knochenmarkselementen. Bezüglich der Deutung dieser Veränderungen wurde in der Mehrzahl der Fälle eine einfache Einschwemmung von Knochenmarksgewebe supponiert, ohne daran weitere Erörterungen zu knüpfen.

In jüngster Zeit haben nun Erich Meyer und Albert Heineke[2]) an der Hand einer größeren Zahl von klinisch beobachteten und zur Autopsie gelangten Fällen von schwerer Anämie auf die dabei häufig zu konstatierenden Veränderungen in Milz und Leber

1) R. Heinz, Lehre von der Funktion der Milz, Virch. Arch. 1902, 168. Cf. auch die Arbeiten von Malassez und Picard (Comptes rendus 1875, T. 81) Laudenbach (Zentralbl. f. Physiol. 1895, Bd. 9) und Freyer, I.-D., Königsberg 1872.

2) Verhandlungen der Deutsch. pathol. Gesellsch., Meran 1905; Deutsches Arch. f. klin. Mediz., Bd. 88.

hingewiesen. Die bei manchen Anämien vorhandene auffallende Ähnlichkeit von Leber und Milz mit embryonalen Organen fassen sie als einen Beweis für die compensatorischen Bestrebungen des Organismus gegenüber primärer Blutschädigung auf und sehen in diesem Rückschlag ins Embryonale eine nützliche Abwehrungsregel des Körpers. Aus dieser einheitlichen Basis heraus erklärt sich ihnen der bei manchen primären Anämien zu erhebende „leukämoide" Blutbefund, indem sich bei diesen Fällen die vikariierenden, das Knochenmark ersetzenden Organe nicht nur auf die Erythropoese beschränken, sondern auch leukoblastische Funktionen übernehmen.

Die Annahme E. Meyers und Heinekes, daß die genannten Organveränderungen als kompensatorisch regenerative aufzufassen sind, stützt sich auf die Analogie mit dem Verhalten derselben Organe beim normalen Embryo, bei dem in Leber und Milz zu bestimmten Zeiten lebhafte Blutzellenbildung stattfindet. Die Autoren nehmen an, daß bei perniciöser Anämie eine toxische Substanz das Blut schädigt und zu gesteigertem Blutzerfall führt, und daß bei genügender Regenerationskraft des Organismus die Organe, die beim Embryo blutbildend sind (Milz, Leber), auf den gesteigerten Bedarf an neuem Blut mit dem Knochenmark zusammen reparatorisch reagieren. Diese Annahme war einer experimentellen Prüfung zugänglich und es mußte untersucht werden, ob beim Tier, das künstlich anämisch gemacht worden war, ein ähnliches Verhalten der blutbildenden Organe sich hervorbringen ließ. Falls diese Frage in bejahendem Sinne beantwortet werden konnte, drängte sich sofort die weitere Frage auf, ob aus dem klinischen Verlauf der Anämie sich die Bedingungen erklären ließen, unter denen eine derart gesteigerte Blutbildung in sämtlichen blutbildenden Organen zustande kommt.

Diese Aufgabe soll die folgende Untersuchung erfüllen, nachdem orientierende Versuche von Morris[1]) bisher nicht zu ganz eindeutigen Resultaten geführt hatten.

Als Versuchstiere wurden Kaninchen benutzt, zumal bereits Bizzozero und Salvioli darauf hinweisen, daß die Kaninchen insofern gegenüber den anderen kleinen Säugetieren eine Ausnahmestellung einnehmen, als sie bereits kurz nach der Geburt normalerweise keinerlei Blutbildung in der Milz mehr zeigen. Wenn aber

1) Inzwischen sind die Untersuchungen von Morris wieder aufgenommen und in The Johns Hopkins Hospital Bulletin. Vol. XVIII, June-Jule 1907 publiziert.

die genannten Forscher für die Zwecke der experimentell zu erzeugenden Blutbildung in der Milz die Kaninchen als ungeeignete Versuchstiere bezeichnen, so kann dem auf Grund der folgenden Untersuchungen nicht beigepflichtet werden.

Bekanntlich bieten sich, um Tiere künstlich anämisch zu machen, zwei Wege, der Aderlaß und die hämolytischen Gifte. Es liegt auf der Hand, daß mit ersterem, falls man auf Organveränderungen als Folgen der Anämie fahndet, zweifellos klarere Verhältnisse geschaffen werden, doch ist andererseits zu bedenken, daß man durch Aderlässe, die sich ja am Tiere nur in beschränkter Zahl anwenden lassen, keineswegs das Äquivalent der langen, über Wochen und Monate ausgedehnten menschlichen perniciösen Anämien erwarten darf. Auch ist daran zu erinnern, daß gerade für die schweren und typisch perniciösen Anämien des Menschen ätiologisch toxisch wirkende Faktoren zu supponieren sind, wie sie beispielsweise das Bothriocephalusgift darstellt.

Übrigens wurde der Versuch gemacht, durch Ansetzen von Blutegeln den Tieren einfache Aderlaßanämien beizubringen. Doch sind meine bisherigen Versuche mit dieser Methode durchaus unbefriedigend ausgefallen. Zunächst war es überaus schwierig, die Blutegel zum Saugen zu veranlassen und es bedurfte einer großen Zahl von Versuchen, um schließlich mit vereinzelten Exemplaren zum Ziele zu gelangen. Andererseits wurde an den drei Tieren, denen auf diese Weise Blut entzogen wurde, die merkwürdige Beobachtung gemacht, daß sie, obschon das verlorene Blutquantum unmöglich hierfür ausreichend sein konnte, innerhalb der nächsten Stunden eingingen. Da sich hierfür keine anatomisch nachweisbare Erklärung finden ließ, dürfte zu prüfen sein, ob es sich etwa um akut toxische Wirkungen handelt, die von den Blutegeln ausgehen. Jedenfalls ist diese Methode protrahierte Anämien zu erzielen wenigstens für Kaninchen nicht sehr aussichtsreich. Auch durch Aderlässe erhielten wir keine langdauernden Anämien.

Es wurden daher ausschließlich Blutgifte verwendet und zwar hauptsächlich das Phenylhydrazinacetat [1]), daneben auch das Pyrogallol, und das Pyrodin (Acetyl-phenylhydrazin), in vereinzelten Fällen das Hydroxylamin.

Die Einverleibung der Giftlösung erfolgte fast ausnahmslos subkutan unter die Rückenhaut. Die Lösung des Phenylhydrazinacetates in 1 proz., die des Pyrogallols in 10 proz. Lösung. Hautabszesse wurden dabei nur ausnahmsweise beobachtet, wogegen derbe Infiltrate der Haut, besonders bei Tieren mit langdauernden Anämien sich nicht vermeiden ließen.

In vereinzelten Fällen wurde die Giftlösung per os gegeben. Doch wurde von dieser Methode umso lieber Abstand genommen, als, abge-

1) S. auch Kaminer u. Rohnstein, Berl klin. Wochenschr. 1900, Nr. 31.

sehen von der Verschiedenheit der anzuwendenden Dosen die erwarteten Veränderungen keine Abweichungen von denjenigen der subkutan vergifteten Tiere aufwiesen — (dies wird auch von Tallquist bestätigt) — andererseits aber die tägliche Anwendung der Schlundsonde das Leben des Tieres jedesmal in Gefahr bringt. Die Einverleibung des Giftes in Pillenform wurde nicht versucht.

Betreffs der jedesmal anzuwendenden Dosis war allein der täglich erhobene Blutbefund maßgebend, besonders für die chronisch verlaufenden Fälle. Diese Vorsicht ist nicht nur mit Rücksicht auf die individuell verschiedene Giftempfindlichkeit äußerlich scheinbar gleicher Tiere notwendig, sondern wegen der auch von Tallquist[1]) hervorgehobenen, rasch zunehmenden Gewöhnung der Tiere an ein Blutgift erforderlich. So konnte konstatiert werden, daß eine Giftdosis, die genügte, um Hämoglobin und Zahl der Erythrocyten auf einen bestimmten Wert herabzudrücken, vergrößert werden mußte, um den Hämoglobinwert nicht wieder sofort ansteigen zu lassen.

Zuvor noch einige kurze Bemerkungen über das normale Kaninchenblut, so weit es für die folgenden Untersuchungen erforderlich ist.

Die Zählung der roten Blutkörperchen ergab beim gesunden erwachsenen Tier Werte zwischen 4,470000 und 8,40000; die Zahl der pseudoeosinophilen Leukocyten war auffallend schwankend, so daß man die physiologische Breite, innerhalb deren sich ihre Werte bewegen, zwischen 3800 und 13100 legen muß. Die Werte für das Hämoglobin sind wohl häufig nicht mehr völlig normal, indem eine mehr oder weniger ausgeprägte „Stallanämie" den Prozentgehalt bis auf 70 herabsinken läßt, während die übrigen anscheinend der Norm entsprechenden Werte zwischen 100 und 120 liegen. Es wurde ein Sahlisches Hämoglobinometer benutzt, das ab und zu mit einem kontrollierten Apparat korrigiert wurde.

Ein Punkt erscheint bezüglich der Technik der Blutuntersuchung erwähnenswert. Unter dem Einfluß verschiedener Blutgifte, in hervorragendem Maße aber bei Vergiftungen mit Phenylhydrazin und seinen Derivaten zeigen die roten Blutkörperchen außer Schrumpfung eine eigentümliche Körnchenbildung, auf die zuerst von Heinz[2]) aufmerksam gemacht worden ist. Dieselbe ist nur im frischen resp. nicht fixierten Präparate sichtbar und z. B. mit Methylenblau oder Methylviolett leicht darstellbar, bei dieser Färbung sieht man oft in der Mitte eines Erythrocyten eventuell auch an seiner Peripherie haftend ein, seltener mehrere „Blaukörner". Im ersteren Falle, wo ein derartiges Blaukorn im Innern eines roten Blutkörperchens sitzt, könnte es bei flüchtiger Betrachtung für einen Kern gehalten werden, von dem es sich aber u. a. durch Fehlen jeder Struktur unterscheidet. Ihr Auftreten ist nun

1) Tallquist, Experimentelle Blutgiftanämien, Berlin 1900.

2) Heinz, Experiment. Patholog. u. Pharmakolog., ferner Zieglers Beitr. 1901, Bd. 29 und Virch. Arch., Bd. 122.

insofern für die Zählung der Leukocyten von Bedeutung, als sie, wenn sie sehr zahlreich sind, in einer Zeiß-Thomaschen Zählkammer event. von weißen Blutzellen schwer zu unterscheiden sind, zumal sie bei Tinktion der Zellkerne mit der üblichen Essigsäure-Gentiana-Violett-Lösung zum Farbstoff in hohem Grade Verwandschaft zeigen. Es bedarf daher gerade die Leukocytenzählung in vorgerückten Stadien der Anämie sehr großer Aufmerksamkeit, sollen nicht erhebliche und für die Beurteilung der folgenden Befunde schwerwiegende Irrtümer unterlaufen.

Mit Rücksicht auf die Morphologie des Kaninchenblutes soll noch hervorgehoben werden, daß in keinem Fall unter normalen Verhältnissen Myelocyten[1]) im kreisenden Blut gesehen wurden. Es wurden von sämtlichen 23 Fällen im normalen Stadium Abstrichpräparate auf ihre verschiedenen Zellarten hin untersucht. Dagegen finden sich, und darauf ist auch von anderer Seite hingewiesen worden, bereits unter normalen Verhältnissen regelmäßig einzelne polychromatophile Erythrocyten in einem oder dem anderen Gesichtsfeld.

Hier sei die prozentuale Zusammensetzung der weißen Blutzellen aus Abstrichpräparaten 3 normaler ausgewachsener Tiere eingeschaltet.

Pseudoeos. polynucl. Leuk. 47,1 resp. 64,1 und 49,4 Proz.

Ungranulierte (Lymphocyten) 39,5 resp. 25,1 und 44,1 Proz.

Mastzellen 10,0 resp. 9,0 und 6,4 Proz.,

Eosin. polynucl. Leuk. 3,1 resp. 1,0 und 0 Proz.

Demnach überwiegen auch bei Kaninchen im ausgewachsenen Zustand die Granulocyten über die Lymphocyten.

Im folgenden sollen aus der Gesamtzahl der vorliegenden Versuchsprotokolle nur einzelne, typische Fälle herausgegriffen werden. Im ganzen wurden 23 Versuche angestellt.

Akute und subakute Anämien.

1) Weibl. Kaninchen Nr. 2. Gewicht 1610 g. Phenylhydrazin in 1 Proz. Lösung, subkutan.

Blutbefund:

3. III. 06.	6 500 000 R.;	110 Proz. Hb (Sahli),	6000 L. 0,1
4. III. 06.	11 Uhr a. m. 4 000 000 R.;	70 Proz. Hb	19 500 L. Morph: zahlr. polychromat. Erythrocyten, ebenso viel punktierte E.

Im frischen Präparat viel „Blaukörner“.

4. III. 8 Uhr. 4 000 000 R.; 55 Proz. Hb 11 200 L. Morph.: dasselbe Bild, nur sind polychrom. und punktiert E. noch stärker vermehrt.

5. III. 8 Uhr p. m. 5 000 000 R.; 65 Proz. Hb 7800 L. Morph.: keine kernhaltigen E. 0,02 Phen.

1) Zum Begriff Myelocyt wurden bei dieser Untersuchung natürlich auch buchtkernige Metamyelocyten (Pappenheim) gerechnet.

6. III. 7 Uhr p. m. 4 120 000 R.; 40 Proz. Hb; 16 400 L. Morph. dasselbe Bild, vereinzelte kernhaltige E.: hochgradige Poikilo- und Anisocytose. Massenh. polychrom. E.

7. III. 12 Uhr m. 2 460 000 R.; 30 Proz. Hb; 11 700 L.

7. III. 7 Uhr m. Durch Nackenschlag getötet.

Sektionsresultat: Blut in allen Organen chokoladenfarben. Leber dunkelbraunrot, brüchig; Milz etwa um ein Viertel größer als normal, die Kapsel durchscheinend, die Schnittfläche schwarzbraun, die Pulpa überquellend, Nieren erscheinen hyperaemisch, Marksubstanz hell, Rinde auffallend dunkel mit Stich ins bräunliche, gegen das Mark scharf abgesetzt. Herzmuskel blaß, brüchig.

Die mikroskopische Untersuchung ergibt trübe Schwellung und teilweise Verfettung der Leberzellen, reichliche Pigmentablagerung, besonders in den Endothelzellen, dagegen lassen Lebercapillaren, wie periportales Bindegewebe jegliche Art von Zellen vermissen, die auf Blutbildung, resp. Ansiedelung von Myeloidgewebe schließen lassen.

Im Abstrichpräparat ortho- und polychromatische Erythrocyten, keine kernhaltigen roten Blutkörperchen, vereinzelte pseudoeosinophile Leukocyten, einzelne Lymphocyten.

Das gleiche gilt von der Milz. Reichliche Mengen von hauptsächlich intrazellulär gelegenem Pigment, starke Hyperaemie des ganzen Organes. Zahlreiche, mit zum Teil noch deutlich erkennbaren Erythrocyten vollgestopfte Makrophagen. Die Follikel sind unverändert nach Form und Größe. Keine kernhaltigen Erythrocyten, keine Myelocyten.

Im Abstrich massenhaft Makro- und Mikrolymphocyten.

Das Knochenmark erscheint diffus braunrot und hat auf der Schnittfläche noch fettige Beschaffenheit.

Mikroskopisch erweist es sich als deutliches „Zellmark“; die normale wabige Struktur ist geschwunden, statt dessen finden sich gleichmäßig im ganzen Gesichtsfeld hauptsächlich Zellen von lymphoidem Habitus, auch pseudoeosinophile und eosinophile Myelocyten. Die Zahl der Knochenmarksriesenzellen erscheint dagegen, verglichen mit einem normalen Knochenmarkspräparat, zweifellos vermindert. Vereinzelt finden sich feinere und gröbere freie Pigmentschollen.

Epikrise: Vergiftung mit Phenylhydrazin; getötet 5 Tage nach Beginn derselben. Keine Veränderungen in Milz und Leber.

Demnach bietet dieser Fall in bezug auf Regenerationsveränderungen in Milz und Leber ein negatives Ergebnis.

2) Weibliches Kaninchen Nr. 3. Gewicht 2000 g. Phen. 1 proz. subkutan.

Blutbefund:

9. III. 06. 6 040 000 R.; 105 Proz. Hb 10 000 L. 7 Uhr p. m. 0,02 Phen. subkutan.

10. III. 10 Uhr a. m. 5600000 R; 80 Proz. Hb 12000 L. Morph.: keine Normoblasten, dagegen polychrom. und gekörnte E.

11. III. 0,02 Phen. subkutan.

12. III. 7 Uhr p. m. 4860000 R.; 75 Proz. Hb; 19800 L. Morph.: vereinzelte Normoblasten.

13. III. 5 Uhr p. m. 0,1 Phen.

14. III. 11 Uhr a. m. 3070000 R.; 55 Proz. Hb; 25300 L. 0,1 Phen.

15. III. 5 Uhr p. m. 3200000 R.; 40 Proz. Hb; 14200 L. 0,1 Ph. Morph. massenh. polychrom. und gekörnte E., sehr starke Aniso- und Poikilocytose. Ab und zu 1 Normoblast.

16. III. 12 Uhr m. 3160000 R.; 40 Proz. Hb; 10400 L. 0,1 Ph. subk. Morph.: Dasselbe Bild wie am Tage zuvor.

17. III. 12 Uhr m. 3020000 R.; 35 Proz. Hb; 17200 L. 0,1 Ph. subkutan.

Das Tier stirbt in der Nacht vom 17. III. zum 18. III. Die Sektion wird am 18. III. 10 Uhr vorm. vorgenommen und hat folgendes Ergebnis:

Leber dunkelbraunrot, brüchig. Milz ziemlich stark vergrößert, blauschwarz auf Schnitt und Oberfläche, Pulpa hervorquellend braunschwarz. Herzmuskel brüchig, stark bräunlich, tingiert, in den Herzhöhlen einzelne chokoladenfarbene Coagula. Herzbeutelhöhle und Pleurahöhle enthalten wenig gelbliche seröse Flüssigkeit. Knochenmark dunkelbraunrot, läßt sich leicht aus der Markhöhle des Femur herausheben.

Mikroskopisch erweisen sich sämtliche genannten Organe von Pigment überschwemmt, besonders die Milz, die Leber etc. Bezüglich der erwarteten Veränderungen in Leber und Milz läßt auch dieser Fall, sowohl in Schnitt wie in Abstrichpräparaten völlig im Stich.

3) Männliches Kaninchen Nr. 15. Gewicht 2700 g, salzsaures Hydroxylamin subkutan.

Blutbefund:

21. VIII. 06. 12 Uhr m. 115 Proz.; 6680000 R.; 15000 L. 0,025 sub.

22. VIII. 12 Uhr m. 62 Proz. Hb; 4240000 R.; 25000 L. Morph.: Zahlreiche Mykrocyten, polychrom. und getüpfelte E., vereinzelte kernhaltige E. 0,02 subk.

22. VIII. 4 1/2 Uhr p. m. 55 Proz.

23. VIII. 11 Uhr a. m. 30 Proz. Hb; 25200000 R.; 28000 L. Morph.: Dieselben Veränderungen wie oben, nur in weit höherem Grade Einzelne Myelocyten.

24. VIII.

25. VIII. wird das Tier tot im Stall aufgefunden.

Das Sektionsergebnis liefert den beiden vorigen Fällen völlig gleichende Befunde, auch mikroskopisch ist keine Abweichung zu konstatieren, nirgends finden sich als Blutbildungsherde anzusprechende Veränderungen.

Ganz so verhält es sich mit Kaninchen Nr. 14 (Gewicht 1900 g), s innerhalb von 4 Tagen (17. VIII. bis 20. VIII. 06) unter Phenyl- drazin-Wirkung akut zugrunde geht, wobei seine ursprünglichen Blut- rte (5000000 R.; 80 Proz. Hb) auf 3200000 R und 50 Proz. Hb rabsinken).

Auch hier ist das Sektionsresultat völlig negativ.

Diese Fälle beweisen, daß bei akutem Blutzerfall rch Einverleibung großer Dosen eines hämolytischen iftes eine schwere Anämie ohne Blutbildungsherde in Milz und ber hervorgerufen wird.

Dem seien folgende Fälle gegenüber gehalten.

II. Chronische Vergiftungen.

1) Männliches Kaninchen Nr. 20. Gewicht 2250 g. Phenyl- drazinacetat-Lösung (0,5 Proz.)

2. IV. 07. 7200000 R.; 100 Proz. Hb (Sahli); 6000 L. 0,01 subk.

3. IV. 5 Uhr p. m. 5120000 R.; 75 Proz. Hb. Morph.: Reich- he Blaukörner im frischen Präparat, einzelne punktierte E., keine rmoblasten 0,01.

4. IV. 5 Uhr p. m. 4250000 R.; 60 Proz. Hb; 3700 L (?) 0,01.

5. IV. — — —

6. IV. 5 Uhr p. m. 3020000 R.; 60 Proz. Hb; 12000 L. Morph.: hllose Blaukörner; im gefärbten Präparat viel punktierte und poly- rom. Etythroc. Vereinzelte ortho- und polychrom. Normoblasten.

7. IV. 11 Uhr a. m. 0,015.

8. IV. 4 Uhr p. m. 3300000 R.; 65 Proz. Hb; 14300 L. Morph.: gefähr dasselbe Bild.

9. IV. 5 Uhr p. m. 3500000 R.; 65 Proz. Hb; 11200 L. Morph.: emlich viel kernhaltige (keine Megaloblasten), fast in jedem Gesichts- ld 1, ferner zahlreiche Makrolymphocyten. 0,01 subk.

11. IV. 07. 5 Uhr p. m. 4100000 R.; 60 Proz. Hb; 15250 L. orph.: Kernhaltige fast sämtlich verschwunden.

13. IV. 5 Uhr p. m. 3650000 R.; 55 Proz. Hb; 17800 L. 0,015 subk.

15. IV. 4 Uhr p. m. 4850000 R.; 75 Proz. Hb; — L. Morph.: zwei Präparaten keine Normoblasten.

16. IV. 5 Uhr p. m. 4800000 R.; 70 Proz. Hb; 9600 L. Morph.: e am 15. IV. 0,02.

17. IV. — — —

18. IV. 5 Uhr. 3600000 R.; 60 Proz. Hb; 21200 L. Morph.: e am 16. IV.

19. IV. 5 Uhr. 0,02 subk.

20. IV. 5 Uhr p. m. 3200000 R.; 55 Proz. Hb; 16300 L. Morph.: hr wenig Normoblasten, starke Veränderungen der Erythrocyten.

21. IV. 11 Uhr a. m. Morph.: ziemlich viel Normoblasten, keine egalobl.

22. IV. 5 Uhr p. m. 3180000 R.; 50 Proz. Hb; 14000 L.

24. IV. 5 Uhr p. m. 2800000 R. 46 Proz. Hb; 8700 L. Morph.: ormobl. verringert gegen 21. IV. 0,01.

26. IV. 5 Uhr p. m 3 100 000 R.; 52 Proz. Hb; 9200 L. 0,015 subk.
27. IV. — — —
28. IV. 10 Uhr a. m. 0,03 subk.
29. IV. 4 Uhr p. m. 2 520 000 R.; 40 Proz. Hb; 10 100 L. Morph.: ziemlich viel Normobl. 0,01 subk.
30. IV. 6 Uhr p. m. 2 800 000 R.; 45 Proz. Hb; 9700 L. 0,02 subk.
1. V. 6 Uhr p. m. 2 600 000 R.; 42 Proz. Hb; 9300 L. 0,03 subk.
2. V. 5 Uhr p. m. 2 210 000 R.; 35 Proz. Hb; 9900 L. Morph.: keine Normobl. 0,01 subk.
3. V. 4 Uhr p. m. 2 850 000 R.; 40 Proz. Hb; 4200 L. 0,02.
4. V. 4 Uhr p. m. 2 300 000 R.; 37 Proz. Hb; 7200 L. Morph.: spärl. Normobl. 0,03.
5. V. 10 Uhr a. m. 1 950 000 R.; 30 Proz. Hb; 14 800 L. 0,01.
6. V. 6 Uhr p. m. 2 100 000 R.; 30 Proz. Hb; 7700 L. Morph.: Normobl. fehlen in 2 Präparaten.
7. V. 5 Uhr p. m. 2 100 000 R; 28 Proz. Hb; 9900 L. 0,01.
8. V. 5 Uhr p. m. 2 900 000 R.; 25 Proz. Hb; 11 200 L. Morph. spärlich hie und da 1 Normobl.
9. V. 11 Uhr a. m. 2 900 000 R.; 25 Proz. Hb; 4700 L. Morph. Normobl. gegen den 8. V. vermehrt.
10. V. 6 Uhr p. m. 2 950 000 R.; 30 Proz. Hb; 5400 L. 0,02.
11. V. 6 Uhr p. m. 2 120 000 R.; 25 Proz. Hb; 9600 L. Morph. keine Normobl., keine Megalobl. 0,02.
12. V. — — —
13. V. 5 Uhr p. m. 1 850 000 R.; 25 Proz. Hb; 7300 L.
14. V. 6 Uhr p. m. 2 100 000 R.; 25 Proz. Hb; 8200 L. Morph. keine Normobl. 0,03.
15. V. 6 Uhr p. m. 1 520 000 R.; 27 Proz. Hb; 9400 L. 0,02.
16. V. 5 Uhr p. m. 1 310 000 R.; 25 Proz. Hb; 8900 L. 0,02. 7 Uhr p. m. wird das Tier tot aufgefunden.

Es stand also vom 2. IV. bis 16. V. unter der Wirkung des Blutgiftes. Die Auszählung der weißen Zellen im Blutpräparat hatte am 14. V. 6 Uhr p. m. ergeben:

Pseudeosin. polyn.	32,2	Proz.
Lymphocyten	56,8	=
Mastzellen	9,1	=
Eosinophile L.	—	=
Erythroblasten	2,2	=
Myelocyten	—	=

Zugleich mit diesem Tier wurde ein Kontrolltier einer möglichst gleichartig verlaufenden Anaemie unterworfen. Da das Ergebnis auch in anatomischer Beziehung analog ausfiel, so soll das Protokoll dieses 2. Tieres hier gleich angeschlossen werden.

Männliches Kaninchen Nr. 21. Gewicht 2550 g. Phenylhydrazinacetat subkutan.
Blutbefund:
2. IV. 07. 8 400 000 R.; 105 Proz. Hb (Sahli); 13 000 L. 0,01 Phen.
3. IV. 07. 0,01 Phen.

4. IV. 6 Uhr p. m. 6310000 R.; 85 Proz. Hb; 16000 L. 0,01.
5. IV. 4 Uhr p. m. 4500000 R. — —
6. IV. 4 Uhr p. m. 4120000 R.; 67 Proz. Hb; 15700 L. Morph.: ahlreiche punktierte E., vereinz. Normobl.
7. IV. 12 Uhr m. 0,02.
8. IV. 5 Uhr p. m. 3200000 R.; 60 Proz. Hb.
9. IV. 5 Uhr p. m. 3800000 R.; 60 Proz.; 12300 L. 0,01.
10. IV. 6 Uhr p. m. 3340000 R.; 60 Proz. Hb; 3400 L. (?) orph.: viel Normobl., keine Megalobl.
11. IV. 5 Uhr p. m. 65 Proz. Hb; 0,02.
12. IV. 6 Uhr p. m. 3410000 R.; 70 Proz. Hb; 21300 L. 0,02.
13. IV. 5 Uhr p. m. 3000000 R.; 65 Proz. Hb; 10200 L. orph.: Kein einzig. Normobl. in 2 Präp. 0,01.
14. IV. 11 Uhr a. m. 3120000 R.; 0,02.
15. IV. 5 Uhr p. m. 2890000 R.; 60 Proz. Hb; 8900 L. Morph.: eine Normobl.
16. IV. — — —
17. IV. 4 Uhr p. m. 3970000 R.; 70 Proz. Hb; 2200 L. Morph.: inz. kernhaltig. rote B. 0,01.
18. IV. 5 Uhr p. m. 4100000 R.; 70 Proz. Hb; 0,01.
19. IV. 11 Uhr a. m. 4230000 R.; 65 Proz. Hb; 9700 L. 0,02.
20. IV. 6 Uhr p. m. 3900000 R.; 60 Proz. Hb; 18900 L. Morph.: eine Normobl.
21. IV. — — —
22. IV. 5 Uhr p. m. 4620000 R.; 0,02.
23. IV. 5 Uhr p. m. 3120000 R.; 54 Proz. Hb; 14700 L. Morph.: ie und da 1 Normobl.
25. IV. 6 Uhr p. m. 3750000 R.; 63 Proz. Hb; 13900 L. 0,01.
26. IV. 5 Uhr p. m. 3900000 R.; 65 Proz. Hb; 4900 L. 0,015.
27. IV. 6 Uhr p. m. 60 Proz. Hb; 0,02.
28. IV. — — —
29. IV. 4 Uhr p. m. 3810000 R.; 60 Proz. Hb; 15200 L. 0,03.
30. IV. 5 Uhr p. m. 2120000 R.; 50 Proz. Hb; 24600 L. orph.: Zieml. viel Normobl.
1. V. — — —
2. V. 6 Uhr p. m. 2950000 R.; 50 Proz. Hb; 16300 L. 0,02.
3. V. 6 Uhr p. m. 2140000 R.; 43 Proz. Hb; 11700 L. Morph.: eine Normobl. 0,02.
4. V. 5 Uhr p. m. 2200000 R.; 37 Proz. Hb; 6700 L. Morph.: eine Normobl. 0,01.
5. V. — — —
6. V. 6 Uhr p. m. 2470000 R.; 32 Proz. Hb; 9500 L. 0,02.
7. V. 6 Uhr p. m. 2150000 R.; 30 Proz.; 4700 L. Morph.: eine Normobl.
8. V. 5 Uhr p. m. 1950000 R.; 27 Proz. Hb; 8400 L. 0,015.
9. V. 10 Uhr a. m. 30 Proz. Hb; 0,01.
10. V. — — — 0,02.
11. V. 6 Uhr p. m. 2100000 R.; 30 Proz. Hb; 11300 L. Morph.: ehr zahlr. Normobl.

12. V. 10 Uhr a. m. 1 780 000 R.; 25 Proz. Hb; 9700 L. 0,025.

13. V. 5 Uhr p. m. 1 230 000 R.; 20 Proz. Hb; 6300 L. Morph.: Sehr spärl. Normobl.

Auszählung der weißen Zellen des Blutpräparates ergibt:

Pseudoeos. polyn. L.	28,7	Proz.
Lymphocyten	61,2	=
Mastzellen	10,1	=
Eosinophile L.	—	=
Erythroblasten	0,5	=
Myelocyten	—	=

Das Tier wird getötet, nachdem es vom 2. IV. bis 13. V. die skizzierte Anaemie durchgemacht hatte.

Sektionsresultat der Tiere Nr. 20 und 21:

Sämtliche inneren Organe hochgradig anaemisch, Blut mißfarben, dünnflüssig, gerinnt langsam. In Brust- und Bauchhöhle wenig trübe seröse Flüssigkeit. Herz sehr schlaff, brüchig, enthält braunrote Gerinnsel. Lungen o. B. Magenserosa am Fundus eigentümlich dunkel gefärbt. Die Blase enthält wenig mißfarbenen bräunlichen, trüben Urin, der starke Eiweißprobe gibt, und im Sediment ziemlich viel Nierenepithelien, rote Blutkörperchen und Zylinder enthält.

Die Milz ist stark vergrößert, besonders in ihrem Längsdurchmesser. Die Maße sind 8×1×0,4 cm. Kapsel durchscheinend; Pulpa wenig überquellend, fast schwarz.

Die Leber ist nicht wesentlich an Größe von der Norm abweichend, etwas brüchig, sonst in ihrer Konsistenz kaum verändert.

Auffallend an ihr ist — und darin liegt schon der makroskopische Hinweis auf vorhandene Veränderungen — die eigentümliche Zeichnung die derartige von ausgedehnten chronischen Anaemien herstammende Lebern an Oberfläche und Schnitt erkennen lassen.

Aus der menschlichen Pathologie erinnert am meisten die Muskatnußleber an dies Bild, da Schnitt und Oberfläche wie gesprenkelt erscheinen und mit unzähligen dunkelroten teils circumscript punktförmigen, teils streifenförmigen Flecken übersät sind. Bemerkenswerter Weise läßt sich jedoch keine regelmäßige Verteilung dieser Partien nach Zentrum oder Peripherie der Acini beobachten.

Im mikroskopischen Bilde begegnet man einer geradezu frappanten Ähnlichkeit mit dem histologischen Habitus einer leukaemischen Leber und demjenigen fötaler Lebern in gewissen Stadien der Entwicklung (5—7 Monat).

Bei schwacher Vergrößerung erscheinen die Lebercapillaren derart mit Zellen angefüllt, daß an einer Stelle des Präparates, wo ein Acinus senkrecht zur Zentralvene geschnitten ist, von dieser ausgehend, die Zellzüge der intralobulären Venencapillaren wie dunkle Streifen erscheinen, die radiär vom Zentrum des Acinus nach der Peripherie ziehen.

Zugleich fällt in einem Übersichtsbild auf, daß die genannten Zellgebilde ungleich an Menge in jedem Acinus verteilt sind und stellenweise deutlich herdartige Anhäufuugen bilden.

Nur ein Teil derselben liegt deutlich intracapillär derart, daß ein Zusammenhängen mit der Wand der Leberbalken resp. deren Endothel nicht nachweisbar erscheint.

Der größere Teil ist bei schwacher Vergrößerung von den Leberbalken selbst nicht abgrenzbar und scheint mit diesen in innigem Connex zu stehen. Das ist die Regel für die in Gruppen angeordneten Zellen. Sie liegen z. T. wie umschriebene Einzprengungen scheinbar innerhalb der Leberbalken besonders dort, wo mehrere benachbarte Leberbalken zusammenstoßen.

Endlich sieht man noch an einem Übersichtsbild, daß dort, wo derartige Zellaggregate vorhanden sind, häufig das Lumen der von dem Leberbalken gebildete Capillare wie ausgebaucht erscheint. Überhaupt sind die Lebercapillaren überall, wo dichtere Zellanhäufungen vorhanden sind, gegen die Norm erweitert.

Endlich ist noch zu konstatieren, daß unregelmäßig über jeden Schnitt verteilt sich Herde finden, in denen Leberzellen fast total verfettet sind, sodaß diese Stellen wie helle Lücken im übrigen Gewebe erscheinen, was umsomehr hervortritt, als dieselben scharf gegen die unveränderte Umgebung abgegrenzt zu sein pflegen.

Die Bedeutung dieser verfetteter Partien dürfte untergeordneter Natur sein; vielleicht handelt es sich einfach um Residuen stark fetthaltigen Lebergewebes, wie es im Laufe dieser Untersuchungen wiederholt bei ganz jungen Tieren beobachtet wurde. wo event. die gesamte Leber eine derartige Beschaffenheit darbietet und eine wabige Struktur zu haben scheint.

Hinsichtlich des periportalen Gewebes waren die bisherigen Befunde inkonstant; stellenweise handelte es sich zweifellos um einen Zellreichtum, der über das Normale hinausgeht, (so wurden vereinzelte Haufen von Normoblasten zusammen mit großen einkernigen Lymphoidzellen gefunden). An anderen Stellen konnte nichts derartiges konstatiert werden, werden, obschon gerade auf diese Veränderungen ein Hauptaugenmerk gerichtet wurde.

Betrachtet man einen solchen Leberschnitt mit der Immersionslinse, so ist man von der Vielgestaltigkeit der verschiedenen Gesichtsfelder überrascht. Sowohl Anordnung wie Form der Zellen sind mannigfachen Variationen unterworfen. (Fig. 2).

Sehr deutlich erkennt man auch hier zunächst, daß ein Teil der besagten Zellen im Lumen der Lebercapillaren liegt, ohne in irgend einer engeren Verbindung mit Endothelien resp. Leberbalken zu stehen.

Der bei weitem größte Teil befindet sich dagegen nicht frei im Lumen der Capillare und dies dürfte gerade für die vorliegende Frage von besonderer Bedeutung sein.

An vielen Stellen erblickt man von dem Capillarlumen ausgehend, sinusartige Ausbuchtungen die wie Aussparungen der Leberbalken aussehen und überall, wo derartige Lakunen vorhanden sind, trifft man die genannten Zellanhäufungen an, so zwar, daß sehr zellreiche Haufen weiteren und tieferen Buchten zu entsprechen scheinen.

Was die Zellen selbst betrifft, so ist es schwer, sie mit wenigen Worten zu charakterisieren, da einmal verschiedene Zelltypen vorliegen,

und außerdem Zellen derselben Gruppe offenbar in verschiedenen Stadien ihrer Entwicklung fixiert wurden.

Hier soll bemerkt werden, daß, um ein einigermaßen sicheres Urteil über eine Zellart abgeben zu können, von der Methode der Abstrichpräparate in jedem Fall ein ausgiebiger Gebrauch gemacht wurde, was in vielen Beziehungen, speziell hinsichtlich der kernhaltigen roten Blutkörperchen von Bedeutung war.

Bezüglich der Methodik bei der Herstellung von Abstrichpräparaten sei kurz darauf hingewiesen, daß für eine möglichste Schonung der zellulären Elemente beim Ausstreichen des Gewebsbreies sich die Anwendung zugeschnittener Kartonblättchen bewährt, deren Kante man mit dem Gewebssaft benetzt und darauf zart über einen Objektträger führt. Hierbei ist es wiederum zweckmäßig, das schief aufgesetzte Blatt, falls z. B. hauptsächlich an der Seite des spitzen Winkels das auszustreichende Material haftet in der Richtung des spitzen Winkels über den Objektträger zu verschieben; so wird jede Spur unnötiger Quetschung vermieden.

Die große Mehrzahl der in Frage kommenden Zellen hat ein ungranuliertes Protoplasma und gehört zum Lymphoidzellentypus. Ein ziemlich großer Prozentsatz unter ihnen sieht wie echte Lymphocyten aus — schmales, ziemlich stark basophiles, granulafreies Protoplasma, großer blasser Kern z. T. mit deutlichen Kernkörperchen.

An zweiter Stelle sind kernhaltige rote Blutkörperchen vertreten, deren typischer Radkern und ihr hämoglobinhaltiges Protoplasma die Erkennung sichert. Von größter Bedeutung sind dabei diejenigen Formen, die sich im Stadium der Kernteilung befinden; ihre Zahl ist allerdings nicht groß, doch finden sich in fast jedem Gesichtsfeld eine oder zwei Mitosen.

Hier muß bemerkt werden, daß aus der Auszählung der verschiedenen Zellformen im Leberabstrichpräparat hervorgeht, daß die Zahl der Erythroblasten tatsächtich eine etwas größere ist, als eine Prüfung des Schnittpräparates vermuten läßt. Dies wird z. T. daraus erklärlich, daß ein Teil der kernhaltigen Erythrocyten mehrere Kerne besitzt, ein anderer Teil nicht mehr deutliche Radspeichenkerne erkennen läßt, sondern einen stark pyknotischen und daher strukturlosen Kern oder einen solchen mit Sprossungsfiguren usw. zeigt, während andererseits hochgradige Polychromasie des Protoplasmas die Abgrenzung gegen hämoglobinfreie Lymphoidzellen erschwert.

Als weitere Zellen sind solche zu nennen, die im Schnitt wie im Abstrich einen Buchtkern und breites granulafreies Protoplasma besitzen, jedenfalls gleichen sie den Ehrlich'schen großen mononucleären Leukocyten resp. den sogen. „Splenocyten (Türk-Pappenheim).

Myelocyten mit pseudoeosinophilen Granulationen sind selten zu finden, so daß auf ihr Vorhandensein im Verlauf dieser Erörterungen kein großer Wert gelegt werden soll. Megakariocyten wurden nicht beobachtet.

Hier muß auf noch eine Zell- resp. Kernform eingegangen werden, die man ziemlich häufig trifft; sie soll hier nur verzeichnet werden, ohne daß ein abschließendes Urteil über ihre Bedeutung abgegeben werden

soll. Im Schnitt erscheint der Kern hochgradig pyknotisch und in eine Anzahl ungleich großer, zum Teil bizzar geformter Fragmente zersprengt. In Abstrichpräparaten erscheinen diese Kernkonfigurationen zum Teil auffallend blaß, z. B. im Vergleich mit pyknotischen Erythroblastenkernen, zeigen oft Kleeblattfiguren, z. T. sind sie ebenfalls intensiv dunkel gefärbt, wie stark verdichtetes Chromatin und sehen wie zerbröckelt aus. Da, wie besonders aus Abstrichpräparaten hervorgeht, diese Kernstrukturen hauptsächlich in hämoglobinhaltigen Zellen vorkommen, dürfte die Frage berechtigt sein, ob es sich bei diesen Zellen nicht um einen auf physiologischem Kernschwund beruhenden Vorgang handelt, also von Übergangsstadien von Erythroblasten zu Erythrocyten. Selbstverständlich könnten diese Bilder auf rein pathologisch degenerativen durch Giftwirkung zu erklärenden Veränderungen beruhen, wodurch ihre Bedeutung für die vorliegenden Erörterungen natürlich hinfällig werden würde.

Das Verhalten der Endothelzellen ist in mehrfacher Hinsicht von Interesse. An vielen Stellen scheinen sie wie abgelöst von den Leberbalken, und zwar augenscheinlich besonders dort, wo sich die oben beschriebenen Zellhaufen in den lakunär ausgeweiteten Capillarsinussen finden [1]. In diesen Partien sieht man bei sehr dünnen Schnitten und tadelloser Konservierung und Färbung von einem derart abgehobenen Endothelstreifen einzelne feine Fasern ausgehen, die stellenweise kaum sichtbare Maschen mit einander bilden. Zum Teil in diesen Maschen, zum Teil mit ihnen in engster Berührung liegen nun die verschiedenen oben beschriebenen Zellen. Stellenweise scheint eine feinste aus einem solchen Netzwerk hervorgehende Faser wie mit einem Fortsatz an einer Zelle zu haften.

Einzelne Endothelien enthalten eosinophile resp. pseudoeosinophile Granula, was wohl auf ihre phagocytäre Tätigkeit zu beziehen ist.

Mit Rücksicht auf die von M. B. Schmidt [2]) erhobenen Befunde zahlreicher Mitosen an den Endothelien embryonaler Lebern und Milzen, muß hier bemerkt werden, daß ein derartiger zwingender Beweis für autochtone Zellproliferation in den vorliegenden Fällen nicht erhoben werden konnte.

Endlich ist noch als beiläufiger Befund zu erwähnen, daß, übereinstimmend mit den von M. B. Schmidt an Embryonen erhobenen Befunden. die in den Capillaren vorhandenen roten Blutkörperchen auffallend verschieden große Durchmesser haben, ohne daß eine Congruenz mit den Befunden im zirkulierenden Blut zu bestehen braucht.

Um bei der oben geschilderten Schwierigkeit bezügl. der Lokalisation der in Frage kommenden Zellen über ihre intra- resp. extracapilläre Lage sicher urteilen zu können, wurde versucht, mit Hilfe der Methode von Maresch [3]) eine Silberimprägnation der feinsten oben

1) Da die allermeisten Tiere nach dem Tode im Laufe der nächsten Stunde zur Sektion kamen, dürften kadaveröse Gewebsveränderungen auszuschließen sein.

2) Zieglers Beiträge, Bd. 11, 1892.

3) Zentralbl. f. allgem. Pathol., Bd. XVI, Nr. 16 und 17.

beschriebenen Fasern vorzunehmen, jedoch konnte auf diesem Wege kein positives Ergebnis erzielt werden.

Das numerische Verhältnis der verschiedenen Zellarten im Leberabstrich ergab im Falle Nr. 20:

Erythroblasten	14,8	Proz.
mononucleäre lymphoide Zellen	75,4	=
pseudoeos. polyn. L.	6,2	=
pseudoeos. Myelocyten	3,8	=

Im Falle 21:

Erythroblasten	12,9	=
mononucl. lymph. Z.	79,8	=
pseudoeos. polyn. L.	6,3	=
pseudoeos. Myelocyten	2,0	=

Die mikroskopische Untersuchung der Milz ergab eine ziemlich starke Verkleinerung der Follikel, die wohl als Druckatrophie aufgefaßt werden muß, da gleichzeitig eine Wucherung der Pulpa vorlag.

Eine genauere Analyse der Pulpazellen zeigt, daß es sich nicht um eine eigentliche myeloide Umwandlung handelt, wie sie bei der myeloiden Leukaemie die Regel ist, wenn man die leukoblastische Funktion an der Zahl der Myelocyten bemißt. Dagegen finden sich unverkennbar herdförmige Erythroblastenhaufen vor. Diese scheinen keinen eigentlichen Prädilektionsort in Bezug auf Trabekel usw. zu haben, wie das z. B. Eliasberg in seinen Versuchen beobachtete. Dagegen ist erwähnenswert, daß die meisten Billrothschen Venensinus mit kernhaltigen roten Blutkörperchen wie vollgestopft erscheinen, wobei natürlich auch die großen einkernigen Zellen mit Buchtkern und breitem ungranuliertem Protoplasma („Splenocyten") nicht fehlen. Mitosen an den Endothelien wurden nicht beobachtet. (Fig. 4).

Auch hier drängt sich einem besonders bei Übersichtspräparaten der Antagonismus zwischen den zellulären Pulpaelementen resp. ihren Derivaten, und den lymphoiden Follikeln auf. Letztere erscheinen bei der unter dem Einfluß der Anämie einsetzenden Metaplasie des Milzgewebes wie unbeteiligt und der Expansion der wuchernden Pulpa hinderlich.

Selbstverständlich finden sich massenhaft pigmenthaltige Makrophagen vor, die verschiedene Phasen im Abbau der roten Blutkörperchen vom fast intakten Erythrocyten herab bis zur gelben Pigmentscholle in sich vereinigen.

Da somit die histologischen Details der Milz im großen und ganzen Bekanntes darbieten, sei hier auf weitere eingehende Beschreibung verzichtet. Im Abstrichpräparate finden sich selbstverständlich in der großen Mehrzahl Zellen von typisch-lymphoidem Habitus, große Lymphocyten, kleine Lymphocyten und wieder breitrandige granulafreie Zellen mit eingebuchtetem Kern. Daneben ein erheblicher Prozentsatz kernhaltiger Erythrocyten teils mit pyknotischen, teils mit nichtpyknotischen Kernen, auch hier nur spärlich Myelocyten.

Auch das Knochenmark zeigt typischen Befund wie bei jeder schwereren Anaemie (Zellmark nach Schur-Löwy), so daß auch hier

ne kurze Beschreibung genügt. Es handelt sich im wesentlichen um rzugsweise Proliferation der Erythrocyten und Lymphoid-llen, während die Gannlocyten an Zahl zurücktreten. Die normalen Mark charakteristischen Fettgewebslücken sind völlig gehwunden. Zahlreiche pigmenthaltige Phagocyten finden sich in jedem esichtsfeld; ebenso ist die Zahl der Knochenmarksriesenzellen nicht bedeutend.

Den beiden erwähnten Fällen sei ein dritter ähnlicher angereiht, r wegen seines völlig analogen Verhaltens nur ganz kurz berührt erden soll.

Männl. Kaninchen Nr. 10. Gewicht 1550 g.

Blutbefund am 19. V. 1906: 90 Proz. Hb; 7 630 000 R.; 9900 L.; hält in der Zeit vom 19. V. bis 10. VI. im ganzen 0,34 Phenyl-rdrazinacetat subkutan und hat am 10. VI. folgenden Blutbefund: Proz. Hb; 1 650 000 R.; 9600 L. (keine kernhaltigen Roten, an n Tagen zuvor spärliche Erythroblasten.)

Auch hier Leber und Milz, wenn auch in geringerem Grade, wie in n vorigen Fällen verändert. In beiden Organen zahlreiche Erythro-asten, vereinzelte Myelocyten.

Endlich soll ein 4. Fall wiedergegeben werden, der seines eigen-mlichen Milzbefundes wegen von Interesse ist.

Männl. Kaninchen Nr. 8; Gewicht 1850; Pyrogallollösung [1]) 10 proz. bkutan.

Blutbefund:

28. IV. 06.	5 Uhr.	110 Proz. Hb (Sahli)	6 930 000 R.;	13 400 L.	0,1.
29. IV.	11 Uhr a. m.	95 Proz. Hb;	5 930 000 R.;	12 900 L.	0,1.
30. IV.	11 Uhr a. m.	85 Proz. Hb;	5 000 000 R.;	11 400 L.	
2. V.	10 Uhr a. m.	80 Proz. Hb;	5 180 000 R.;	10 300 L.	0,1.
5. V.	7 Uhr p. m.	80 Proz. Hb;	4 500 000 R.;	8500 L.	0,1.
6. V.	11 Uhr a. m.	75 Proz. Hb;	3 990 000 R.;	8700 L.	0,05.
7. V.	7 Uhr p. m.	80 Proz. Hb;	4 870 000 R.;	8900 L.	0,1.
9. V.	12 Uhr a. m.	90 Proz. Hb;	5 500 000 R.;	10 000 L.	0,2.
10. V.	12 Uhr m.	—	5 200 000 R.;	14 600 L.	0,2.
11. V.	12 Uhr m.	—	—	—	0,1.
	5 Uhr p. m.	75 Proz. Hb;	4 870 000 R.;	5900 L.	0,1.
12. V.	9 Uhr a. m.	75 Proz. Hb;	5 000 000 R.;	17 800 L.	—
14. V.	9 Uhr a. m.	75 Proz. Hb;	5 200 000 R.;	14400 L.	0,2.
15. V.	9 Uhr a. m.	60 Proz. Hb;	4 100 000 R.;	11 200 L.	0,4.
16. V.	9 Uhr a. m.	55 Proz. Hb;	3 800 000 R.;	21 900 L.	
	12 Uhr a. m.	—	—	—	0,4.
17. V.	9 Uhr a. m	55 Proz. Hb;	3 670 000 R.;	17 700 L.	0,5.
18. V.	11 Uhr a. m.	58 Proz. Hb;	3 800 000 R.;	7800 L.	0,4.
19. V.	11 Uhr a. m.	60 Proz. Hb;	3 120 000 R.;	14 100 L.	0,3.
20. V.	11 Uhr a. m.	52 Proz. Hb;	2 350 000 R.;	14 900 L.	0,4.

1) Da ein und dieselbe Pyrogallollösung ziemlich lange in Gebrauch war, anzunehmen, daß der toxische Wert jeder einzelnen Dosis im Laufe der Zeit ringer wurde, als den im Protokoll notierten Dosen entspricht.

21. V.	10 Uhr a. m.	50 Proz. Hb;	2 200 000 R.;	19 200 L.	0,5.
22. V.		—	—	—	—
23. V.	11 Uhr a. m.	50 Proz. Hb;	2 300 000 R.;	17 400 L.	0,3.
24. V.	12 Uhr m.	48 Proz. Hb,	2 100 000 R.;	8200 L.	0,4.
25. V.	6 Uhr p. m.	50 Proz. Hb;	2 400 000 R.;	8400 L.	0,5.
26. V.	11 Uhr a. m.	40 Proz. Hb;	1 990 000 R.;	6500 L.	0,5.
27. V.	12 Uhr m.	35 Proz. Hb;	1 780 000 R.;	3200 L.	0,6.
28. V.	12 Uhr m.	30 Proz. Hb;	1 200 000 R.;	9800 L.	0,5.
29. V.	8 Uhr p. m.	25 Proz. Hb;	1 420 000 R.;	9100 L.	0,5.
30. V.	11 Uhr a. m.	23 Proz. Hb;	1 310 000 R.;	4900 L.	0,3.

30. V. 12 Uhr m. wird das Tier durch Schlag auf den Kopf getötet.

Die Sektion ergibt im wesentlichen einen sehr ähnlichen Befund wie die beiden vorigen Fälle, die Leber ist womöglich noch stärker verändert, wenigstens finden sich noch reichlichere intravasculäre Zellaggregate, wenn auch die Neigung circumscripte Herde zu bilden weniger ausgebildet ist.

Das Leberabstrichpräparat enthält 16 Proz. Erythroblasten. Die übrigen histologischen Details weichen fast nicht von den vorhergehenden Fällen ab.

Anders steht es in diesem Falle mit der Milz. Sie ist ebenfalls wieder stark vergrößert, ihre Maße sind $7 \times 1 \times 0,5$ cm; die Pulpa dunkel rotbraun, schmierig weich. Der Schnitt weist ein Bild auf, wie es nur in diesem einzigen Falle angetroffen wurde, während in allen übrigen Fällen auch nicht andeutungsweise eine ähnliche Veränderung beobachtet wurde.

Das Auffallendste bei schwacher Vergrößerung ist ein derartig hochgradiger Schwund alles lymphoiden Gewebes inklusive Follikel, daß nur ganz spärliche Reste von diesem übrig sind, ja stellenweise um ein Follicular-Gefäß herum nur noch kleinste Zellhäufchen den ehemaligen Follikel andeuten. In entsprechendem Maße sind die lymphoiden Advenditialscheiden der Gefäße auf äußerst geringe Reste reduziert, so daß oft nur wenige in einem Längszug angeordnete Lymphoidzellen übrig sind, die die ehemalige Struktur skizzieren.

Die rote Pulpa resp. in diesem Fall diejenigen Zellelemente, die sich außer den Follikelresten überhaupt noch im Milzgewebe finden, ist ebenso eingreifend verändert. Bei flüchtiger Betrachtung erscheint nämlich dieser Teil eines Milzschnittes wie fast homogen und strukturlos, resp. wie fein gekörnt, ohne jeden sichtbaren Zellgehalt, bezw. frei von wahrnehmbaren Kernen. Bei starker Vergrößerung sucht man vergeblich auch hier nach kernhaltigen Gebilden, tatsächlich handelt es sich um eine geradezu ungeheure Ansammlung von kernlosen roten Blutkörperchen, die infarktartig die rote Pulpa durchsetzen und augenscheinlich alle übrigen zellulären Elemente zum Schwunde gebracht haben.

Das Bindegewebsgerüst, die Trabekel, und die Gefäßwände deuten nicht auf indurative Prozesse. An einzelnen Follikulargefäßen ist hingegen bemerkenswert, daß die Gefäßwände partiell nekrotisch erscheinen und an diesen Stellen eine Blutung in die Follikel zustande gekommen ist. Beachtenswert ist ferner das völlige Fehlen von

freiem und intrazellulärem Pigment, wie es in allen übrigen mit langdauerndem Blutzerfall einhergehenden Anämien der Fall war. Der Vergleich mit einer Infarktbildung liegt histologisch nahe, doch ist nicht einleuchtend, warum die ganze Milz derartig gleichmäßig verändert war. Pathologisch-anatomisch war jedenfalls kein Grund für einen derartigen Befund anzugeben.

Vom Knochenmark ist hier nur als beiläufiger Befund zu erwähnen, daß es entschieden mehr Pigment enthält als in den übrigen untersuchten Fällen. Im übrigen ist es typisches vorwiegend erythropoetisches Zellmark.

Weiter seien hier einige Fälle mitgeteilt, bei denen der Verlauf der Anämie etwas modifiziert wurde, durch Einschaltung von Erholungsperioden zwischen die Perioden progredienter Intoxication.

Weibl. Kaninch. Nr. 11 Gewicht 1400 g; Phenylhydracinacetat subkutan.

18. VI. 06	12 Uhr m.	105 Proz. Hb (Sahli);	7460000 R.;	5200 L.	0,01
19. VI.	1 Uhr p. m.	95 Proz. Hb;	6400000 R.;	12400 L.	0,02
20. VI.	—	—	—	—	0,02
21. VI.	10 Uhr a. m.	45 Proz. Hb;	4190000 R.;	13900 L.	—
22. VI.	11 Uhr a. m.	40 Proz. Hb;	3970000 R.;	10100 L.	0,015
23. VI.	11 Uhr a. m.	35 Proz. Hb;	2590000 R.;	11300 L.	0,015
24. VI.	11 Uhr a. m.	27 Proz. Hb;	1660000 R.;	20460 L.	—
25. VI.	10 Uhr a. m.	35 Proz. Hb;	2228000 R.;	18600 L.	—
26. VI.	11 Uhr a. m.	45 Proz. Hb;	2820000 R.;	12700 L.	—
27. VI.	12 Uhr m.	50 Proz. Hb;	3500000 R.;	8800 L.	—
28. VI.	11 Uhr a. m.	60 Proz. Hb;	3320000 R.;	8900 L.	—
29. VI.	—	—	—	—	—
30. VI.	11 Uhr a. m.	80 Proz. Hb;	4690000 R.;	4500 L.	—
1. VII.	10 Uhr a. m.	—	—	—	0,02
2. VII.	11 Uhr a. m.	68 Proz. Hb;	4470000 R.;	6000 L.	—
4. VII.	11 Uhr a. m.	—	—	—	0,02
5. VII.	11 Uhr a. m.	55 Proz. Hb;	3440000 R.;	5300 L.	0,01
6. VII.	11 Uhr a. m.	52 Proz. Hb;	3200000 R.;	6000 L.	0,015
7. VII.	11 Uhr a. m.	48 Proz. Hb;	3110000 R.;	15000 L.	0,02
8. VII.	—	—	—	—	—
9. VII.	11 Uhr a. m.	43 Proz. Hb;	2360000 R.;	17000 L.	0,005
10. VII.	12 Uhr m.	40 Proz. Hb;	2110000 R.;	10200 L.	0,01
11. VII.	11 Uhr a. m.	35 Proz. Hb;	2210000 R.;	9400 L.	0,01
12. VII.	11 Uhr a. m.	27 Proz. Hb;	1950000 R.;	7900 L.	—
13.—16. VII.	—	—	—	—	—
16. VII.	11 Uhr a. m.	60 Proz. Hb;	4950000 R.;	6800 L.	—
—	12 Uhr m. getötet.				

Das Prozentualverhältnis der kernhaltigen Zellen im Blut:

Lymphoide Formen	74,4	Proz.,
Pseudoeos. polyn. L.	18,8	Proz.,
Eosinoph. polyn. L.	2,7	Proz.,
Mastzellen	4	Proz.,
Erythrobl.	0	Proz.,
Myelocyten	0	Proz.

Ein Paralleltier vom selben Wurf wie Nr. 9, wurde derselben Versuchsanordnung unterworfen.

Weibl. Kaninchen Nr. 12. Gew. 1250 g. Phenylhydracinacetat subkutan.

Blutbefund:

19. VI. 06.	90 Proz. Hb;	6250000 R.;	9700 L.	0,01	
20. VI.	—	—	—		
21. VI. 11 Uhr a. m.	50 Proz. Hb;	4820000 R.;	8400 L.	0,02	
22. VI. 11 Uhr a. m.	50 Proz. Hb;	4220000 R.;	14900 L.	0,02	
23. VI. 11 Uhr a. m.	42 Proz. Hb;	4000000 R.;	12800 L.	0,01	
24. VI. 10 Uhr a. m.	38 Proz. Hb;	3750000 R.;	21200 L.	0,015	
25. VI. 11 Uhr a. m.	28 Proz. Hb;	3820000 R.;	17400 L.	0,015	
26. VI. 11 Uhr a. m.	22 Proz. Hb;	2790000 R.;	4800 L.	—	
27. VI. 10 Uhr a. m.	28 Proz. Hb;	1740000 R.;	10400 L.	—	
28. VI. 11 Uhr a. m.	30 Proz. Hb;	1630000 R.;	5700 L.	—	
29. VI. 10 Uhr a. m.	36 Proz. Hb;	2500000 R.;	5300 L.	—	
30. VI. 11 Uhr a. m.	40 Proz. Hb;	2520000 R.;	7700 L.	—	
1. VII.	—	—	—	—	
2. VII. 10 Uhr a. m.	66 Proz. Hb;	4470000 R.;	5900 L.	—	
3. VII.	—	—	—	—	
4. VII. 11 Uhr a. m.	80 Proz. Hb;	5600000 R.;	6600 L.	0,015	
5. VII. 11 Uhr a. m.	55 Proz. Hb;	4460000 R.;	8500 L.	0,01	
6. VII. 10 Uhr a. m.	68 Proz. Hb;	5230000 R.;	7000 L.	0,015	
7. VII. 11 Uhr a. m.	52 Proz. Hb;	4400000 R.;	10000 L.	0,02	
9. VII. 11 Uhr a. m.	45 Proz. Hb;	3510000 R.;	9900 L.	0,01	
11. VII. 10 Uhr a. m.	50 Proz. Hb;	2910000 R.;	6500 L.	0,02	
12. VII. 11 Uqr a. m.	35 Proz. Hb;	1870000 R.;	9900 L.	0,01	
13. VII. 11 Uhr a. m.	22 Proz. Hb;	1900000 R.;	8700 L.	—	
14. VII. 10 Uhr a. m.	20 Proz. Hb;	1670000 R.;	7200 L.	—	
16. VII. 10 Uhr a. m.	30 Proz. Hb;	2510000 R.;	7200 L.	—	
17. VII. 11 Uhr a. m.	50 Prz. Hb (?);	3900000 R.;	6400 L.	—	

17. VII. 2 Uhr p. m. wird das Tier getötet.

Auszählung des Blutabstrichpräparates ergibt:

Lymphoide Formen	64,2	Proz.
Pseudoeos. polyn. L.	23,6	=
Mastzellen	7,8	=
Eos. polyn. L.	4,1	=
Erythrobl.	0,5	=
Pseudoeos. Myelocyten	—	=

Das Sektionsergebnis beider Tiere soll hier soweit wiedergegeben werden, als es von dem der vorher genannten Fälle abweicht.

Für die Leber ist hervorzuheben, daß die oben beschriebenen Zellen in exquisiter Weise Neigung zeigen, Gruppen zu bilden (siehe Fig. 1), deren einzelne Zellen so dicht beieinander liegen, daß man über ihr Verhältnis zu den Lebercapillaren nichts Sicheres aussagen kann, und auch bei starker Vergrößerung ist es unmöglich zu entscheiden, was innerhalb und was außerhalb der Capillarwand liegt. Auch hier soll besonders auf die Tatsache der Herdbildung Nachdruck

gelegt werden. Sicher zeigen rein quantitativ die beiden letzten Fälle hierin stärkere Veränderungen. Dem entspricht auch ein höherer Gehalt an Erythroblasten im Ausstrichpräparat der Leber (s. Fig. 2).

Bei Nr. 11:	25,0	Proz.	Erythroblasten,
	2,4	=	Myelocyten,
12:	38,2	=	Erythroblasten,
	1,9	=	Myelocyten.

Auch die Milz verhält sich von den vorigen Fällen abweichend. Schon bei schwacher Vergrößerung sieht man zahlreiche Zellen in der Pulpa, teils einzeln, teils gruppenförmig zusammen liegend, die deutlich eosinophile Granulationen besitzen, bei starker Vergrößerung erkennt man sie als hauptsächlich eosinophile Myelocyten. Ihrer Lage nach scheinen sie stellweise die perivasculären Pulpaschichten zu bevorzugen. An anderen Stellen läßt sich keine Regel für ihre Lokalisation auffinden.

Nie wurden — auch bei sorgfältigstem Suchen — Myelocyten im Bereich der Malpighischen Körperchen gefunden.

Daneben sind wieder zahlreiche kernhaltige rote Blutkörperchen in Gruppen und vereinzelt in der Pulpa zu finden, die Venensinus sind z. T. mit mononucleären, teilweise haemoglobinhaltigen Zellen erfüllt, doch sind diese Bilder lange nicht so häufig wie bei den erstgenannten Fällen.

Hier soll übrigens bemerkt werden, daß das Knochenmark im Gegensatz zu den Fällen 20, 21 und 10 zweifellos reicher an granulierten Zellen ist und daß speziell die pseudoeosinophilen Myelocyten in den beiden letzten Fällen nicht unwesentlich stärker vertreten sind. [1])

Greift man die wesentlichen Punkte der vorliegenden Untersuchungen heraus, so ergibt sich, daß sich bei künstlicher Anämisierung von Kaninchen vermittelst hämolytisch wirkender Gifte in Milz und Leber Veränderungen erzielen lassen, wie sie unter normalen Verhältnissen beim ausgewachsenen Tiere niemals anzutreffen sind, die aber eine nicht zu verkennende Ähnlichkeit mit Bildern aufweisen, die Erich Meyer und A. Heineke bei schweren menschlichen Anämien in den genannten Organen beschrieben haben (Fig. 4).

Dabei ist augenscheinlich für ihr Zustandekommen im Tierexperiment chronischer Verlauf der Anämie eine notwendige Bedingung, wie das aus dem negativen Resultat der drei erst angeführten Versuche (Tiere Nr. 2, 3, 15) hervorgeht; zweitens weisen unter der Zahl der chro-

1) Dieser Befund im Hinblick auf die in diesem Falle konstatierte ausgeprägte myeloide Metaplasie des Markes ist eine Illustration für die von Pappenheim früher speziell für die Leukaemie gemachte Beobachtung, daß Knochenmark und myeloid metaplasierte Milz cytologisch einander korrespondieren.

nischen lang ausgedehnten Anämien wiederum diejenigen die stärkeren Veränderungen auf, bei denen periodenweise ein Abschnitt von kontinuierlicher Giftzufuhr und entsprechend progressiver Anämie mit einem Erholungsstadium abwechselte.

Dieses Verhalten spricht eindeutig in dem Sinne, daß die hier experimentell hervorgerufenen Organveränderungen als Zeichen der Regeneration aufzufassen sind. Es fragt sich nur, ab alle in Leber und Milz vorhandenenen jugendlichen Blutzellen an Ort und Stelle gebildet worden sind, oder ob sie aus anderen Organen, dem Knochenmark, eingeschwemmt, in Leber und Milz nur zu reifen Elementen sich entwickeln. Daß in diesen Organen eine lebhafte Zellbildung besteht, zeigen die relativ zahlreichen Mitosen an den indifferenten Blutkörperchen und den Erythroblasten. Im zirkulierenden Blut wurden niemals Mitosen gesehen. Ferner spricht die ausgesprochene herdweise Gruppierung der jungen Zellen sowohl in der Leber wie in der Milz mehr für eine lokale Bildung, als für Einschwemmung.

Eine besonders wichtige Tatsache ist der wesentlich verschiedene Gehalt an kernhaltigen Erythrocyten in den Abstrichen der Organe, speziell der Leber, einerseits und den kurz vor dem Tode entnommenen Blutabstrichpräparaten andrerseits.[1]) Die Resultate seien hier im Auszug wiederholt:

Tier Nr. 20, Blutpräparat vom 15. V.:				
	Erythrobl.	2,2	Proz.	
im Leberabstrichpräparat	Erythrobl.	14,8	=	(Fig. 3)
Tier Nr. 21, Blutpräparat (13. V.):				
	Erythrobl.	0,5	=	
Leberabstrich	=	12,9	=	
Tier Nr. 11, Blut (16. VII).:	=	—	=	
Leberabstrich	=	25,0	=	
Tier Nr. 12, Blut (17. VII.):	=	0,5	=	
Leberabstrich	=	38,2	=	

Endlich muß, auch in den am Tier gewonnenen Befunden auf die frappante Ähnlichkeit mit den Bildern in den gleichen fötalen

1) Es soll ausdrücklich betont werden, was übrigens aus den Protokollen hervorgeht, daß man sich durch tägliche Kontrolle des Blutbildes darüber vergewisserte, daß ein Tier nicht gerade in der Periode zur Untersuchung gelangte, wo im Blut eben ein Schwarm Erythroblasten nachweisbar war und durch Einschwemmung in die verschiedenen Organe zu Täuschungen Veranlassung geben konnte. Dieselbe Vorsicht wurde übrigens auch gegenüber hohen Leukocytenwerten beobachtet, was einer der Gründe für die erhebliche Reduktion der Zahl verwertbarer Versuche ist.

Organen aufmerksam gemacht werden, an die Meyer und Heineke hauptsächlich ihre theoretische Überlegungen knüpfen: Hier wie dort in den Lebercapillaren zahlreiche Zellen, die teils echte Erythroblasten, teils Lymphoidzellen sind, bei denen hier wie dort zum Teil nicht zu entscheiden ist, was intra- und was extracapillär liegt.

Schließlich aber beansprucht eine Beobachtung — und diese darf durch einen Teil der vorliegenden Untersuchungen als erwiesen gelten — besondere Beachtung, das ist die Tatsache, daß die stärksten Veränderungen in den Organen resp. der höchste Gehalt an Jugendformen der roten Blutkörperchen sich bei denjenigen Tieren fanden (Nr. 11 und 12), bei denen im Verlauf der Vergiftung giftfreie Erholungspausen eingeschaltet wurden, bei denen also dem Organismus Gelegenheit gegeben wurde, mit genügender Kraft auf die Schädigung des Blutes zu reagieren. Daß er es mit Erfolg tat, geht aus dem jedesmaligen rapiden Ansteigen der Werte von Erythrocyten und Hämoglobin hervor.

Zusammenfassung.

Durch protahierte Vergiftung mit Phenylhydrazin, Pyrogallol usw. können bei Kaninchen Organveränderungen hervorgerufen werden, die mit denen menschlicher perniciös anämischer Organe die weitgehendste Ähnlichkeit besitzen. Diese bestehen in lymphoider Umwandlung des Knochenmarkes, myeloider Umwandlung der Milz mit Erythro- und Leukopoese, und in dem Auftreten von Knochenmarkselementen in der Leber. Diese Veränderungen kommen nur dann zustande, wenn die Vergiftung eine chronische ist; sie sind am stärksten ausgebildet, wenn das Tier sich während der Vergiftung mehrmals erholt hatte und der Vergiftung erst allmählich erlag; sie fehlen immer bei akuter Vergiftung. Dies Verhalten spricht für die von Erich Meyer und A. Heinecke ausgesprochene Annahme, daß die gleichen bei Menschen mit perniciöser Anämie gefundenen Organveränderungen ein Ausdruck der Regenerationbestrebung des Organismus gegen gesteigerten Blutzerfall bedeuten. Auch beim Tier ähneln die beschriebenen Veränderungen aufs Deutlichste den Organbefunden embryonaler Tiere. Auch hierin liegt eine weitere Analogie zu den Organbefunden der perniciösen Anämie beim Menschen.

Nachtrag zur Korrektur.

Aus äußeren Gründen konnte die vorliegende Arbeit, die bereits Juli 1907 fertiggestellt war, nicht früher veröffentlicht werden. Unterdessen ist die Arbeit von Blumenthal und Morawitz (Ex-

perimentelle posthämorrhagische Anämien und ihre Beziehungen zur aplastischen Anämie) im Deutsch. Archiv f. klin. Med. 92 H. 1 u. 2 erschienen. Diese Arbeit hat in mehrfacher Hinsicht Beziehungen zu unserem Thema. Hier sei nur darauf hingewiesen, daß das von den Verff. mehrfach betonte Fehlen extramedullärer Blutbildungsherde in ihren Fällen sich ungezwungen aus der kurzen Dauer ihrer experimentell erzeugten Anämien erklären läßt. Außerdem spielt offenbar, wie aus meiner Arbeit hervorgehen dürfte, die Einschaltung von Remissionsperioden für das Zustandekommen der fraglichen Veränderungen eine bedeutsame Rolle. Bemerkenswert ist, daß den Autoren die Erzeugung sekundärer Anämien mit Hilfe von Blutegeln gelang, während ich konstant hierin Mißerfolge am Kaninchen verzeichnete.

Erklärung der Abbildungen auf Tafel II, III.

Fig. 1. Leber von Kaninchen Nr. 20, vergiftet mit Phenylhydrazinacetat; schwache Vergrößerung. Man sieht, daß die Lebercapillaren mit zahlreichen Zellen erfüllt sind, die eine herdartige Anordnung besitzen.

Fig. 2. Dieselbe Leber wie in Fig. 1. Starke Vergrößerung. In den Capillaren viele kernhaltige rote Blutkörperchen und ungranulierte mononucleäre lymphoïde) Zellen, einzelne pseudoeosinophile Myelocyten.

Fig. 3. Abstrichpräparat derselben Leber (Hämatoxylin-Eosinfärbung). Man sieht massenhaft kernhaltige rote Blutkörperchen mit Kernzerfall, Kleeblatt- und Sprossungsfiguren; einzelne Zellen sind mehrkernig; aber durch das Fehlen der pseudoeosinophilen Granula von Leukocyten leicht zu unterscheiden. Im zirkulierenden Blute dieses Falls kurz vor dem Tode waren 2,2 Proz. Erythroblasten enthalten.

Fig. 4. Milz eines mit Phenylhydrazin vergifteten Kaninchens (Nr. 21). Die venösen Sinus sind voll von Erythroblasten; auch in der Pulpa viele kernhaltige rote Blutzellen.

XVIII.

Arbeiten aus dem pharmakologischen Institut der Univerität Göttingen.

13. Über den Einfluss des Lichtes auf die Bildung von Kohlenoxydmethämoglobin.

Von

Dr. A. Gröber, Assistenten am Institut.

Im Jahre 1894 führte Quincke [1]) an der Hand von Versuchen zum ersten Male in exakter, einwandsfreier Weise den Nachweis, daß die Sauerstoffzehrung dem tierischen Körper entnommener Gewebe im Sonnenlicht ungleich energischer vor sich geht, als im Dunkeln. Als Sauerstoff abspaltende Körper verwendete er bei seinen Versuchen Bismuth. subnitric. oder Blut, das mit Sauerstoff gesättigt war, also Oxyhämoglobin.

Ein Jahr später publizierte dann J. Bock [2]) seine Beobachtungen „Über eine durch das Licht hervorgerufene Veränderung des Methämoglobins", nämlich über die Umwandlung von durch Ferricyankalium hergestelltem Methämoglobin durch Licht in sogenanntes Photomethämoglobin, das indessen wenig später identisch mit Cyanhämoglobin gefunden wurde (Haldane)[3]).

Bei den von Quincke angestellten Versuchen handelt es sich nun nicht nur um eine erhöhte Sauerstoffzehrung, d. h. Reduktionskraft der geprüften Gewebe, sondern gleichzeitig offenbar um eine erhöhte Fähigkeit der verwendeten oxydierenden Substanzen, des Blutes bezw. des Bismuth. subnitric., Sauerstoff abzugeben, zu dissociieren, wie auch J. Marcuse [4]) es deutet. Dafür spricht auch

---

1) Über den Einfluß des Lichtes auf den Tierkörper. Pflügers Arch., Bd. 57.

2) Skandin. Arch. f. Physiol., Bd. 6, 1895.

3) Nach O. Hammarsten, Lehrbuch d. physiol. Chemie, Wiesbaden 1907 (S. 205). S. a. v. Zeynek, Ztschr. f. physiol. Chemie, Bd. 33 (S. 426ff.).

4) Luft- und Sonnenbäder; Physikalische Therap. in Einzeldarstellungen, herausgegeben v. J. Marcuse und A. Strasser. H. 3.

schon die von Quincke in der gleichen Arbeit niedergelegte Beobachtung, daß die Methämoglobinbildung durch Kal. chloric. im Sonnenlichte bedeutend rascher vor sich geht, als im Dunkeln. Denn Kal. chloric. ist ja kein reduzierender, sondern ein oxydierender Körper. Es wird ja wohl auch hier, wie v. Zeynek[1]), dem sich auch Hüfner[2]) anschließt, für Kal. permang. und Ferricyankalium fand, bei der Methämoglobinbildung zunächst der Sauerstoff des Oxyhämoglobins losgerissen, und findet erst dann die Anlagerung von zwei OH-Gruppen an das Hämoglobinmolekül statt.

Das Licht beeinflußt nun nicht nur die Methämoglobinbildung aus Oxy-Hämoglobin, sondern auch die aus Kohlenoxyd-Hämoglobin, wie im Folgenden gezeigt werden soll.

Daß auch hier das Licht von Einfluß ist, fiel zunächst Herrn Professor Jacobj gelegentlich eines Vorlesungsversuches auf, und er beauftragte mich, diese Erscheinung näher zu prüfen. Als Methämoglobinbildner diente Ferricyankalium.

Der Einfachheit halber will ich hier gleich die allen Versuchen gemeinsamen Versuchsbedingungen kurz beschreiben.

Es kam durchweg defibriniertes Rinderblut zur Verwendung. Dieses wurde mit CO-Gas gesättigt und mehrere Stunden unter CO-Druck stehen gelassen. Vor dem Versuch wurden von diesem CO-Blute 2,0 ccm mit 98,0 ccm Aqu. dest. gemischt, filtriert, und durch das Filtrat nochmals kurze Zeit Kohlenoxydgas geleitet. Von dieser Blutlösung kamen für jeden Versuch 10,0 ccm zur Verwendung. Als Absorptionsgefäße dienten Glaskästchen von 10,0 mm lichter Weite (Schichtdicke) mit planparallelen Wänden.

Als Lichtquelle wurde eine Nernst-Lampe benutzt mit drei vertikal-parallelen Leuchtstäben.

Die Wärmestrahlen wurden, um deren Einfluß als Fehlerquelle zu vermeiden, durch fließendes Wasser (lichte Weite der Wasserkammer 5,5 cm) abgehalten. Um auch die chemisch wirksamen, violetten und ultravioletten Strahlen nach Belieben ausschalten zu können, wurde eine Rotscheibe benutzt, wie sie als Lichtfilter auch zu photographischen Zwecken verwendet zu werden pflegt, und zwischen Lampe und Absorptionskästchen gebracht wird, so daß das Rot des Spektrums allein zur Geltung kommt. Es wurde stets eine Beobachtung mit, eine ohne Rotscheibe gemacht, unter sonst gleichen

1) Archiv für (Anat. u.) Physiologie 1899. Neue Beobachtungen über das Methaemoglobin.

2) Ebenda. Nachträgliche Bemerkungen zu Dr. v. Zeyneks Versuchen, die die Bildung von Methaemoglobin betreffen.

Bedingungen. Da nun bei den Versuchen ohne Buntscheibe natürlich das Spektrum wesentlich heller erscheint, so lag die Gefahr nahe, daß man infolge der starken Helligkeitsunterschiede durch Blendung zu falschen Beobachtungsresultaten gelangen könnte. Dem wurde dadurch begegnet, daß bei den Versuchen ohne Rotscheibe diese statt zwischen Lichtquelle und Objekt zwischen Okular und Auge geschaltet wurde. — Um als letzte Fehlerquelle noch die Reflektion von Licht an den beiden Flächen der Buntscheibe zu eliminieren, wurde bei den Versuchen ohne Rotscheibe eine einfache weiße Glasscheibe zwischen Lampe und Objekt gesetzt.

Die Zeit, die verging von dem Moment an, wo das Reagens mit der Meßpipette zu der im Kästchen befindlichen CO-Blutlösung zugesetzt wurde, bis zum eben Bemerkbarwerden des Methämoglobinstreifens, wurde mit Hilfe einer Stoppuhr bestimmt. Das Mischen der beiden Flüssigkeiten geschah durch sanftes Umrühren mit einem Glasstabe, um das Umschütteln und dadurch etwa bedingte Sauerstoffaufnahme aus der Luft möglichst zu vermeiden.

In den nun folgenden Versuchen wird die Menge des verwendeten Reagens stets in g Trockensubstanz angegeben. Jeder Versuch umfaßt 12 Einzelbeobachtungen, 6 mit, 6 ohne Rotscheibe.

Erster Versuch.

Ferricyankalium 0,004 g. Beginn der Met-Hb-Bildung

a) ohne Rotscheibe nach:	1. 40″	b) mit Rotscheibe nach	1. 145″
	2. 43″		2. 138″
	3. 44″		3. 140″
	4. 38″		4. 135″
	5. 45″		5. 151″
	6. 45″		6. 140″
Mittel	42,5″.	Mittel	141,5″.

Zweiter Versuch.

Ferricyankalium 0,002 g. Beginn der Met-Hb-Bildung

a) ohne Rotscheibe nach:	1. 56″	b) mit Rotscheibe nach:	1. 186″
	2. 58″		2. 174″
	3. 57″		3. 186″
	4. 57″		4. 180″
	5. 62″		5. 184″
	6. 58″		6. 180″
Mittel	58″.	Mittel	181,7″.

Dritter Versuch.

Ferricyankalium 0,001 g. Beginn der Met-Hb-Bildung

a) ohne Rotscheibe nach:	1. 90″	b) mit Rotscheibe nach:	1. 253″
	2. 89″		2. 254″
	3. 87″		3. 250″

a) ohne Rotscheibe nach:		b) mit Rotscheibe nach:	
	4. 94″		4. 245″
	5. 92″		5. 238″
	6. 90″		6. 252″
Mittel	90,3″.	Mittel	248,7″.

Vierter Versuch.

Ferricyankalium 0,0005 g. Beginn der Met-Hb-Bildung

a) ohne Rotscheibe nach:		b. mit Rotscheibe nach:	
	1. 145″		1. 515″
	2. 144″		2. 510″
	3. 158″		3. 510″
	4. 150″		4. 512″
	5. 149″		5. 511″
	6. 144″		6. 526″
Mittel	148,3″.	Mittel	514″.

Fünfter Versuch.

Ferricyankalium 0,0003 g. Beginn der Met-Hb-Bildung

a) ohne Rotscheibe nach:		b) mit Rotscheibe nach:	
	1. 246″		1. 768″
	2. 256″		2. 766″
	3. 253″		3. 774″
	4. 250″		4. 779″
	5. 248″		5. 771″
	6. 259″		5. 760″
Mittel	252″.	Mittel	769,7″.

Die in obigen Versuchen gefundenen Zeiten können und sollen natürlich keinen Anspruch auf **absolute** Genauigkeit machen. Denn erstens tritt bei andauernder Beobachtung nur einer Farbe sehr bald Ermüdung ein. Und wenn auch, wie es geschehen ist niemals alle zu einem Versuche gehörigen 12 Beobachtungen hinter einander, sondern möglichst an verschiedenen Tagen und zu verschiedenen Stunden gemacht wurden, so sind doch auf Ermüdung beruhende Fehler nie mit Sicherheit auszuschließen. Zweitens aber ist bekanntlich die Farben- wie auch die einfache Lichtempfindlichkeit auch desselben Beobachters durchaus nicht immer gleich, sondern Schwankungen unterworfen, die ihrerseits wieder Beobachtungsfehler bedingen können. Ich habe mich daher auf 12 Einzelbeobachtungen zu jedem Versuche nur in den Fällen beschränkt, wo die Resultate einigermaßen gleichmäßige waren. War dies nicht der Fall, so mußten oft wiederholte Kontrollbeobachtungen gemacht werden. Besonders im Anfang erhielt ich große Differenzen, die allerdings in der Hauptsache wohl auf Ermüdung beruhten, — bis zu $^1/_4$ der später festgestellten Zeiten. In den obigen Versuchen sind natürlich nur die besten Einzelbeobachtungen zusammengestellt, die indessen noch immer teilweise recht erheblich differieren. Die

oben angegebenen Zeiten sind übrigens durchweg absolut zu lang. Das liegt daran, daß infolge der Einschaltung der Rotscheibe und der dadurch bedingten Verdunkelung des Gesichtsfeldes der Methämoglobinstreifen später sichtbar wird, als er in Wirklichkeit auftritt. Indessen ist dieser Fehler überall gleich und kann also vernachlässigt werden.

Genauere und objektive Resultate könnte man ev. mit Hilfe einer Selenzelle erhalten, da ja die Leitungsfähigkeit des Selens für den elektrischen Strom gerade durch die roten Strahlen vor allen Farben am stärksten beeinflußt wird (L. Graetz[1]). Leider stand mir solches Instrument nicht zur Verfügung.

Übrigens möchte ich hier noch bemerken, daß eine subjektiv meßbare Zeitdifferenz bezw. des Verlaufes der Reaktion in rotem Licht und in völliger Dunkelheit von mir nicht festgestellt werden konnte.

Daß es sich bei allen Versuchen um CO-Met-Hb handelte, wurde durch nachherigen Zusatz von Schwefelammonium bewiesen, nach dem wieder die beiden Streifen des CO-Hb bezw. des CO-Hämochromogens auftraten, wie dies auch Kobert[2]) und Araki[3]) beschreiben.

Auf welche Weise im übrigen die Met-Hb-Bildung aus CO-Hb vor sich geht, das zu entscheiden muß ich Berufeneren überlassen.

Übrigens scheint ein Teil der Reagentien, die aus O_2-Hb die Bildung von Met-Hb veranlassen, dies aus CO-Hb nicht zu tuen, wenigstens nicht in nennenswertem Maße. So sah ich nach Anilinwasserzusatz auch nach viertägigem Stehen an der Luft noch keine Spur von Met-Hb-Bildung, ebensowenig nach Kal. chloric., dagegen ziemlich prompt nach Zusatz von sehr konzentrierter Lösung von Kaliumnitrit oder Phenylhydrazin.

Ich habe mich im vorstehenden auf die Mitteilung einiger weniger Versuchsreihen beschränkt, weil durch sie der Einfluß des Lichtes, und zwar der chemisch wirksamen Strahlen auf die Met-Hb-Bildung aus CO-Hb klar bewiesen ist. Eine Mitteilung weiterer gleichartiger Versuche würde überflüssig sein. Wie man sieht, beträgt die Reaktionszeit im Dunkeln etwa das Dreifache von der im Licht.

Bei Gelegenheit obiger Versuche konnte ich noch eine eigentümliche Beobachtung machen, die ich in der mir zugänglichen Literatur nicht finden konnte.

1) Elektr. Leitfähigkeit von metallisch leitenden Körpern. Winkelmanns Handbuch d. Physik, II. Aufl., Bd. IV, 1.

2) Kobert, Lehrbuch d. Intoxicationen. II. Aufl. Bd. II.

3) Über den Blutfarbstoff und seine näheren Umwandlungsprodukte. Ztschr. f. physiol. Chemie XIV, 5.

Falck[1]) hat zuerst gezeigt, daß die Met-Hb-Bildung (aus O_2-Hb) durch Kal. chloric. viel schneller erfolgt, wenn man gleichzeitig NaCl zugibt. Nach Falck nimmt die Reaktionsgeschwindigkeit mit Steigerung des NaCl-Zusatzes von 1,5 Proz. nach oben zu. Diese Angabe bezieht sich nun auf die Met-Hb-Bildung bei Erhaltung der Erythrocyten. Am lackfarbenen Blute scheint Falck die Kochsalz-Chlorat-Kombination nicht probiert zu haben.

Da liegen nun die Verhältnisse ganz anders, abgesehen davon, daß freies O_2-Hb der Chloratwirkung viel rascher unterliegt, als an die Körperchen gebundenes.

Am lackfarbenen Blute steigt nämlich die Reaktionsgeschwindigkeit durchaus nicht mit steigender NaCl-Konzentration, sondern nimmt vielmehr mit Erhöhung der NaCl-Konzentration ab.

Ich sehe hier ab von sehr hohen Kochsalzzusätzen, die, wie auch Falck bemerkt, ohne Mitwirkung anderer Gifte für sich allein aus O_2-Hb Met-Hb zu bilden vermögen.

Da es vielleicht zur Klärung der Frage über den Einfluß des NaCl auf die Met-Hb-Bildung durch die Chlorate beitragen kann, will ich hier einige wenige Beobachtungen kurz mitteilen.

Zur Verwendung kam eine filtrierte Mischung von 4 Teilen defibriniertem, mit Sauerstoff gesättigtem Schweineblut mit 96 Teilen destilliertem Wasser. Es wurden mehrere Absorptionskästchen (Schichtdicke 10 mm) mit je 5,0 ccm dieser Blutlösung beschickt und jeder Portion 5,0 ccm einer 6-proz. Lösung von Kal. chloric. zugesetzt. Den einzelnen Portionen der $KClO_3$-Lösung waren vorher verschiedene Mengen einer 25-prozentigen Kochsalzlösung zugefügt worden, und zwar zu einer 0,05 ccm, zur zweiten 0,5 ccm., zur dritten 2,0 ccm. Um die so entstandene Differenz der Flüssigkeitsmengen auszugleichen, wurde zu Probe I 1,95 ccm. zu Probe II 1,5 ccm Aqu. dest. hinzugefügt. Es waren also schließlich in jedem Absorptionskästchen 12,0 ccm Flüssigkeit. Verschieden war dabei nur die NaCl-Menge.

Es ergaben sich nun folgende Reaktionszeiten:

	Gehalt der Mischung an: KClO	NaCl	Beginn der Met-Hb-Bildung nach: Minuten
I.	2,5 Proz.	0,1 Proz.	170
II.	2,5 „	1,0 „	185
III.	2,5 „	4,17 „	215

Diese drei Versuche mögen genügen, da sie das eigentliche Verhalten hinreichend dartuen.

1) Beitrag zur Kenntnis der Chloratwirkung. Pflügers Arch., Bd. 45, 1889.

Eine Erklärung dieses sonderbaren Reaktionsverlaufes ist kaum anders möglich, als durch die Dissociation des Kochsalzes. Und zwar können es nur die Chlor-Ionen sein, die ihn in irgend einer Weise bedingen.

Ich werde diese Sache ferner verfolgen und s. Z. weiter darüber berichten.

Zum Schlusse erfülle ich die angenehme Pflicht, Herrn Professor Jacobj für die freundliche Anregung zu dieser Arbeit und das daran bewiesene Interesse meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Anmerkung bei der Korrektur. Der Vollständigkeit wegen sei hier zu den Versuchen auf S. 348 noch bemerkt, daß Kontrollversuche mit $KClO_3$-Lösung ohne jeden NaCl-Zusatz eine längere Reaktionszeit ergaben.

XIX.

Aus dem pharmakologischen Institut der böhm. Universität in Prag.

Untersuchungen über die vaguslähmende Wirkung der Digitaliskörper.

Von

Privatdozent Dr. Camill Lhoták von Lhota.

(Mit 9 Kurven).

Traube erklärte in seiner Abhandlung „Zur Theorie der Digitalis-Wirkung“ die Erscheinungen im zweiten durch Pulsbeschleunigung charakterisierten Stadium der Digitaliswirkung als eine Lähmung der Vagusnerveen, ohne daß er seine Annahme durch einen direkten Beweis dargetan hätte.

Erst Ackermann (Deutsch. Archiv. f. klin. Med. 1873) fand die nach der Digitalineinspritzung auftretende Unwirksamkeit der Vagusreizung. Von dieser Zeit an wurde die vaguslähmende Einwirkung der Digitalis-Körper mehrmals bestätigt.[1])

Die vollständige Lähmung der Vagusnerven manifestiert sich nach allen Digitalisstoffen durch eine absolute Unwirksamkeit jeder Reizung der Vagusstämme in der Richtung nach der Peripherie. Zentralwärts bleiben die Vagi vollkommen intakt, was man gut an den Veränderungen der Atmung und des Blutdruckes beurteilen kann.

Man konnte sich auf Grund der in dieser Weise angestellten Untersuchungen die Vorstellung machen, daß die Lähmung der Vagusnerven nach verschiedenen Digitalisstoffen nicht anders als nach den atropinartig wirkenden Stoffen zustande kommt.

Das ist aber nicht der Fall. Atropin in einer genügend starken Gabe, (z. B. von 5 mg) einem Kaninchen einverleibt, lähmt die Vagusnerven ebenso vollständig und beinahe augenblicklich wie z. B.

1) Nur vereinzelt finden sich die Angaben von der Erhaltung der Vaguserregbarkeit nach verschiedenen Digitalisstoffen. Marmé-Zeitschrift f. rat. Med. 1866. Klug. Arch. f. Physiol. 1880.

),5 mg Strophantin. Nach geringeren Gaben Atropins, aber z. B. ıach 0,5 mg entsteht eine rasch vorübergehende (in 10 Minuten) ınd nicht immer vollständige Lähmung. Es entwickelt sich rasch ›ine schwache Parese der Vagusnerven, während welcher es bei Reizung derselben nur zu einer verminderten Verlangsamung der Herzbewegungen und zu einer kleineren Blutdrucksenkung kommt. Eine ebensolche partielle Lähmung der Vagusnerven kann man auch ıach kleinen Gaben z. B. von Scopolamin ja auch nach den größeren ntravenös eingespritzten Mengen von destilliertem Wasser beobachten. n beiden letztgenannten Fällen erholen sich die Vagusnerven be-sonders schnell — nach dem destilliertem Wasser schon in einer Minute.

Dementgegen kommt es während des ganzen Vergiftungsver-aufes nach den Digitalisstoffen[1]) niemals zu dieser atropinartigen Lähmung der Vagusnerven. Wenn wir z. B. die allmähliche Entwicklung der Vergiftung nach einer kleinen intravenös appli-ierten Gabe von Digitoxin (0,4—0,5 mg) untersuchen und dabei lie verschiedenen Etappen des Vergiftungsbildes mit den Verände-ungen der Vaguserregbarkeit in Zusammenhang zu bringen ver-uchen, so finden wir regelmäßig, daß der Endeffekt der Vagus-wirkung immer gleich bleibt d. h. die Verlangsamung der Herz-bewegungen, wie auch die Blutdrucksenkung erreichen immer denselben Grad von Intensität. Aber dieser unveränderte Endeffekt ler Vagusreizung kommt mit der sukzessiv stärkeren Digitoxin-wirkung immer nach längerer Reizungsdauer. Es macht las ganze Phänomen den Eindruck, als ob mit zunehmender Digitoxinwirkung die Latenzzeit der Vaguswirkung sich immer mehr und mehr verlängere.

Dieselbe Erfahrung können wir mit jedem anderen Digitalis-stoffe machen. Wir können daher ganz allgemein den Satz auf-stellen, daß in der Digitalisvergiftung der Eintritt der Pulsverlangsamung nach Beginn der Vagusreizung immer weiter und weiter hinausgerückt wird, bis endlich jede Reizung ohne Effekt bleibt.

Siehe Fig. 1—4. (Fig. 1. Vaguswirkung beim Kaninchen vor der Einspritzung des Strophantins g. Fig. 2. Effekt der Vagusreizung 10 Min. nach der Injektion von 0,1 mg Strophantin g bei demselben Kaninchen. Fig. 3. Reizung desselben Vagusnerven in der 17. Min.

1) Ich hatte zu diesem Zwecke digitoxin, digitalin, strophantin g (ouabain), helleborein, adonidin, convallamarin, erythrophlein und digalen immer in frisch bereiteten Lösungen geprüft.

nach Injektion. Oben Athembewegungen. Fig. 4. Vagusreizung in der 20. Min. a—b Dauer der Induktionsreizung. Zeit = 1 sec.).

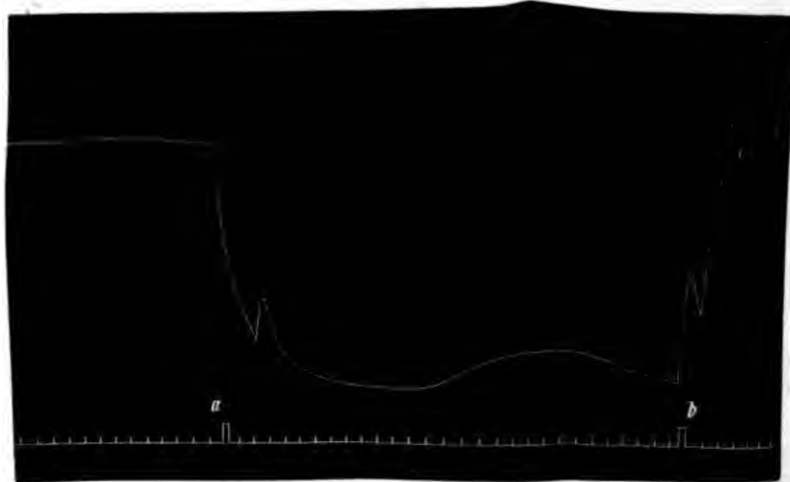


Fig. 1.



Fig. 2.

Wenn man das Verhalten des Pulses in der eben beschriebenen „Latenzzeit" näher betrachtet, so kann man sich leicht überzeugen, daß auch in dieser Zeit der scheinbaren Unerregbarkeit der Vagusnerven der Puls sich zwar wenig aber doch sichtbar verlangsamt und daß auch der Blutdruck sinkt — zum Beweise, daß es sich nicht um eine einfache Latenzverlängerung handeln kann. (Bei



Fig. 4.

verschiedenen Stoffe und endlich auch von der Spezies und Individualität des Tieres ab. Nach großen Gaben aller Digitalisstoffe tritt die Vaguslähmung sehr schnell ein. Bei den digitoxinartig wirkenden Stoffen entwickelt sich die Lähmung allmählicher, als nach den zum Typus des Helleborein gehörenden Stoffen. Bei Katzen genügt zur Vergiftung eine viel kleinere Gabe als bei Kaninchen.

2. Es entsteht nun die Frage, welche Deutung den geschilderten Erscheinungen zu geben ist. Es wurde festgestellt, daß die allmählich stattfindende Lähmung der Vagi nach Digitalisstoffen nicht durch eine Verminderung der Vagusfunktion, sondern durch einen immer mehr und mehr verzögerten Eintritt des unveränderten Reizeffektes entsteht. Man muß also die durch Digitalis entstehende Lähmung der Vagusnerven von der atropinartigen Lähmung unterscheiden.

Die Lähmung durch Atropin stellt man sich als eine Verminderung der Funktionsfähigkeit der Vagus-Endapparate vor. Dagegen bleibt in der Digitalisvergiftung die Vagusreaktion bis zum Eintreten der vollständigen Lähmung intakt erhalten, woraus der Schluß erlaubt sein dürfte, daß diese Vaguslähmung

nicht durch Veränderung der Hemmungseinrichtungen, sondern z. B. durch eine Alteration der motorischen Funktionsfähigkeit des Herzens bedingt war. Durch eine Steigerung der automatischen Fähigkeit des Herzens könnte z. B. ein der Vaguserregung entgegenwirkendes Agens zustande kommen, durch welches die Vaguswirkung so zu sagen blockiert würde.



Fig. 5.

Diese Annahme stimmt gut mit der Erklärung überein, welche von Cushny (Journal of exp. Medecine Vol. II. 1897.) für die Beschleunigung des Pulses im zweiten Stadium der Digitaliswirkung gegeben wurde.

Nach Cushny ist die Acceleration bezw. die Irregularität des Pulses im späteren Stadium der Digitalisvergiftung durch die erhöhte Erregbarkeit des Herzmuskels bezw. durch die Interferenz der normalen und abnormalen Reizimpulse bedingt. Diese Auffassung der Digitaliswirkung ist in Cushnys Arbeit durch zahlreiche Versuche am Säugetierherzen begründet und gewinnt noch weitere Stütze durch die Beobachtungen, bei welchen durch elektrische Reizung verschiedener Herzteile analoge Allorhythmien wie nach Digitalis erzielt werden konnten.

Was das mit Digitalin behandelte Froschherz betrifft, wurde durch Brandenburgs Versuche (Engelmanns Archiv. Supplement 1904) festgestellt, daß unter der Wirkung mäßig starken Gaben von Digitalin das Froschherz die Neigung entwickelt, in einem umgekehrten

die Erschöpfung des Herzens noch beschleunigen und so vielleicht auch den raschen Tod des Herzens herbeiführen.

Hiermit sind wir mittels der Einwirkung der Muskelgifte auf das mit Digitalis behandelte Herz zum ganz bestimmten Resultate gelangt, daß der Herzmuskel bei dem Zustandekommen der Vaguslähmung beteiligt ist und zwar in der Weise, daß die erhöhte Erregbarkeit desselben die normale Vaguswirkung so zu sagen blockiert. Es erübrigt noch zu bestimmen wie weit die geschilderten Veränderungen der Vaguswirkung auch durch nervöse Einflüsse mitbedingt sind, und ob es Eingriffe gibt, durch welche diese Frage zur Lösung gebracht werden könnte.

Bei der Gelegenheit der mehrmals wiederholten Prüfung der Vaguswirkung hatte ich beobachtet, daß die scheinbare Latenz ausnahmslos bei wiederholter Vagusreizung immer mehr verkürzt, ja manchmal vollständig aufgehoben wird.

Wenn z. B. bei der sich allmählich entwickelnden Digitalisvergiftung in einem bestimmten Zeitabschnitte die Vaguswirkung erst nach dreißig Sekunden der Reizungsdauer des Vagusstammes zustande kommt, so gelingt es dieselbe Vaguswirkung binnen fünf Sekunden hervorzurufen, wenn die zweite Reizung in den ersten zwei bis fünf Minuten nach der vorangehenden erfolgt.

Man kann also sagen, daß der Vaguseffekt durch eine kurz (vor 2—5 Min.) vorangehende Vaguserregung zeitlich gefördert wird.

Bemerkenswert ist, daß diese durch Reizsummation entstandene Förderung des Reizeffektes, welche man als eine Bahnung bezeichnen kann, auch für die Reizung des zweiten Vagus in Geltung bleibt, was bezeugt, daß diese Bahnung der Vaguserregungen in den für beide Vagi gemeinsamen Endapparaten zustande kommt.

Weiter ist es in bezug auf den Entstehungsmodus des betreffenden Phänomens zu betonen, daß nur durch die Wiederholung der Reizungen die geschilderte Verkürzung der Latenzzeit zustande kommt; — bloße Verstärkung der Reizintensität, auch wenn man beide Vagusnerven gleichzeitig und maximal reizt, ist ohne Einfluß auf die Latenzdauer.[1])

Über das Wesen dieser Förderungswirkung der wiederholten Reizung läßt sich wenig Bestimmtes aussagen.

---

1) Bei einer nacheinander folgenden wiederholten Reizung der beiden Vagi pflegt der Effekt der letzten Reizung nicht nur früher einzutreten, sondern auch intensiver zu sein, was vielleicht dadurch zustande kommen dürfte, daß man in diesem Falle mehr Vagusfasern gleichzeitig reizt.

Man könnte annehmen, daß die Nachwirkung des Hemmungsreizes in den nervösen Einrichtungen des Herzens zustande kommt. Es besteht aber immer noch die Möglichkeit, daß die durch Digitalis bewirkte Alteration der Muskelfunktion (Erhöhung der Erregbarkeit) durch gesteigerte Hemmungswirkung in ihrer Intensität verändert resp. abgeschwächt wird. Nach dem Aufhören des Hemmungsreizes kehrt dann die Erregbarkeit des Muskels nur allmählich zur früheren Höhe wieder zurück.

Man konnte schon auf Grund der besprochenen Tatsachen verschiedene Beweise zugunsten dieser Auffassung anführen. Ich hatte behufs der Aufklärung dieser Fragen auch weitere Versuche mit Muskarin, Jodothyrin und Versuche am bloßgelegten Herzen angestellt, ohne aber zu bestimmten Resultaten gelangen zu können.

Man konnte z. B. erwarten, daß das Muskarin im Einklange mit den durch Reizsummation gewonnenen Resultaten auch die Latenzdauer verkürzen könnte bezw. daß es die durch Digitalis bewirkte Vaguslähmung aufheben wird.

Das ist aber nicht der Fall. Vielmehr ruft das Muskarin gewöhnlich gleich nach der Einspritzung eine hochgradige Arhythmie der Herzbewegungen, während welcher auch einige große und gedehnte Pulse (Vaguspulse) zum Vorschein zu kommen pflegen, aber die Erregbarkeit der Vagusnerven bleibt dabei unverändert bzw. aufgehoben, wie sie vor der Einspritzung des Muskarins gefunden wurde.

Jodothyrin, wie es sich nach Fenyvessys (Wiener klin. Wochenschrift 1900) Beobachtungen erwarten ließ, übt auf die mit Digitalis bewirkte wie auf die nach Atropin entstehende Vaguslähmung nicht den geringsten Einfluß aus.

Am bloßgelegten Herzen und bei nach Knollschen Verfahren registrierten Herzbewegungen waren die Erscheinungen schon vor und besonders nach der Digitaliseinspritzung, was die Erregbarkeit der Vagusnerven betrifft, so unberechenbar veränderlich, daß ich von weiterem diesbezgl. Versuche vorläufig Abstand nehmen mußte.

Auch Knoll erwähnt in seiner Arbeit (Sitzungsber. der math. naturwiss. Klasse der Wiener Akad. CIII. Bd. III. Abt. 1894.), daß ihm bei den Versuchen mit Vagusreizung mittels des Induktionsapparates zahlreiche Incongruenzen des Reizeffektes an den einzelnen Herzteilen als Zufälligkeiten aufstießen, die er nicht etwa durch eine bestimmte Abstufung der Reizung erzielen konnte. Mir scheint es wahrscheinlich, daß diese Veränderlichkeit des Reizeffektes besonders durch abnorme Reizwirkungen, welche beim Bloßlegen des

Herzens zustande kommen, bedingt wird. Wenn man z. B. ein nach Knollscher Methode bloßgelegtes Herz mit dem Tabakrauche anhaucht, kann die Reizung der Herzoberfläche so exzessiv sich verstärken, daß der Vaguseffekt überhaupt ganz ausbleibt.

Außer den bisher geschilderten anfänglichen Stadien der vaguslähmenden Digitaliswirkung habe ich auch dem letzten Stadium der Digitalisvergiftung besonders den verschiedenen Arten des Herztodes Aufmerksamkeit gewidmet.

Nach einer größeren Dosis eines jeden Digitalisstoffes stellt das Herz seine Bewegungen in kürzerer oder längerer Zeit ein. Wenn dieses Aufhören der Herzbewegung plötzlich eintritt, so erscheinen natürlich alle Folgen der akuten Anaemie des Gehirns — als dyspnoische Atembewegungen, Krämpfe, Asphyxie. Der Blutdruck sinkt sehr schnell zur Abscisse und zwar nach helleboreinartig wirkenden Stoffen viel rascher als nach Digitoxin, crist. Digitalin und Erytrophlein, was mit der intensiveren Wirkung der letzteren Stoffe auf Gefäßmuskeln in Zusammenhang zu bringen ist.

Plötzlicher Herztod tritt regelmäßig erst im Stadium der Vaguslähmung ein, aber nach letalen und supraletalen Gaben von Digitoxin hören die Kontraktionen des Herzens auf, auch bei noch erhaltener Erregbarkeit der Vagusnerven.

Es ist bekannt, daß das plötzliche Aufhören der Herzbewegungen in einer Digitalisvergiftung bei Warmblütern fast immer eine Vernichtung der Herzfunktion bedeutet. Weder durch die Massage in Verbindung mit künstlicher Atmung, noch durch andere Belebungsversuche gelingt es, das Herz noch zu Kontraktionen zu bringen, weil es nicht mehr in die Diastole übergehen kann[1]). Aber auch nach Gaben, welche nicht sofort zum Herztode führen, ist eine Verminderung der Reaktionsfähigkeit des Herzens zu konstatieren. Man sieht es klar, wenn wir an ein durch Digitalis vergiftetes Herz größere Arbeitsanforderungen stellen. Beim Erstickungsversuche z. B. hören oft die Herzkontraktionen plötzlich auf schon im Verlaufe der ersten Minute oder im Krampfstadium.

3. Die kumulative Wirkung kommt allen Digitalisstoffen zu. Unter dem Begriffe der Kumulation ist nicht nur die Verstärkung der Wirksamkeit der letzten Gaben, sondern auch ein frühes Auftreten ihrer Wirkung zu verstehen.

Wenn man z. B. eine Gabe von 0,3 mg Digitoxin intravenös einem 2 kg schweren Kaninchen injiziert, welches schon durch eine

1) Vgl. Schmiedeberg, Grundriß d. Pharmakologie, 5. Aufl. 1906, S. 269.

kleine („therapeutisch") Strophantingabe (oder auch Digitoxingabe) zur Aufnahme des Digitoxins vorbereitet wurde, so tritt die Wirkung der letzten Gabe nicht nur toxisch intensiver, sondern auch sehr rasch ein. Man sieht, daß in diesem Falle die Vaguslähmung binnen drei Minuten eintritt, obwohl nach derselben intravenösen Digitoxingabe (von 0,3 mg) die Lähmung der Vagusnerven beim unvergifteten Kaninchen auch nicht nach Ablauf von 75 Minuten erscheint. Die ganze im eben beschriebenen Versuche auf zwei Injektionen verteilte Gabe (z. B. von 0,6 mg Digitoxin) auf einmal appliziert lähmt zwar die Vagusnerven, aber nicht vor Ablauf einer Stunde.

Wir können also sagen, daß alle Digitalisstoffe das Herz für jede folgende Digitaliswirkung empfindlicher machen, so daß die Wirkung der letzten Gaben nicht nur intensiver, sondern auch in kürzerer Zeit eintritt. Darum kann man auch z. B. durch schnellwirkende Digitalisstoffe (z. B. durch Strophantin g) die Wirkung einer minimaler Digitoxingabe nicht nur wirksam, sondern auch rasch wirksam machen.

Von dieser wahren Kumulation, welche einzig und allein in einer Summation der Gaben und der Wirkung besteht, muß man noch eine andere Art der Kumulation unterscheiden, welche aus ganz anderen Faktoren hervorgeht.

Aus den experimentellen Untersuchungen Fraenkels (dieses Archiv Bd. 51.) geht hervor, daß eine minimal tödliche Digitoxinmenge von 0,08 mg pro kg. auf zwei Injektionen, an zwei aufeinander folgenden Tagen verteilt, nur Pulsverlangsamung, aber keine Vergiftung hervorruft. Das kann man nur so begreifen, daß sich in nacheinander folgenden Injektionen nicht 0,04 + 0,04 mg summieren, sondern z. B. 0,01 + 0,04 oder 0,02 + 0,04 — kurz gesagt: der Organismus erholt sich durch Ausscheidung oder Veränderung des Giftes (?) von der Digitoxinwirkung gleich nach dem Einführen des Giftes — also in der Zeit, wo noch keine Merkmale der Wirkung hervortreten.

Die Untersuchungen über die Art und Weise der Erholung von der Digitoxinvergiftung erfordern eine lange Beobachtungszeit und noch dazu ist es beinahe unmöglich nach einer toxischen Gabe von Digitoxin eine vollständige Erholung festzustellen. Nach den helleboreinartigen Stoffen kann man dagegen in einem einzigen kurzen Experimente das ganze Vergiftungsbild vom Anfange bis zur vollständigen Lähmung der Vagusnerven und wieder die nachherige Phase der Erholung verfolgen.

Wenn man z. B. einem 2 kg schweren Kaninchen 0.3 mg Stro-

phantin intravenös appliziert, so erscheint nach einer schon geschilderten „Latenz" die vollständige Unerregbarkeit der Vagusnerven in der dreizehnten Minute (in diesem Falle). In der 30. Minute sind die Vagusnerven wieder erregbar und der Puls und Blutdruck vollkommen normal. Diese Erholung der Vagusnerven verwirklicht sich in derselben Weise wie die Lähmung, d. h. wie die Vaguslähmung allmählich durch scheinbare Latenzverlängerung zustande gekommen ist, so erscheint als das erste Merkmal der beginnenden Erholung ebenfalls eine bei dauernder Vagusreizung plötzlich sich entwickelnde Vaguswirkung. Mit fortschreitender Erholung verkürzt sich „die Latenzzeit" mehr und mehr bis endlich wieder beide Vagi auf Reizung normalerweise antworten.

Die Modalitäten das Erholungsprozeßes gestalten sich im einzelnen außerordentlich verschieden. Am schnellsten entwickelt sich die Erholung nach Helleborein. Sehr oft erscheint in der scheinbaren Latenzdauer pulsus bigeminus. Manchmal kommt es zu einer schnell vorübergehenden Recidive der Vaguslähmung, besonders zu Anfang der Erholung. [1])

Die Tätigkeit des aus Strophantinvergiftung vollkommen erholten Herzens erscheint als ganz normal. In seiner Reaktionsweise auf Vagusreizung unterscheidet sich das erholte Herz nicht im mindesten von einem gesunden Herzen —, aber auf eine neue Gabe irgend einen Digitalisstoffes reagiert es viel intensiver und viel rascher als ein normales Herz.

Also kommt es hier zu einer Art, man könnte sagen, paradoxen Kumulation, weil man hier doch keine Summation der Wirkung schon annehmen kann. Vielmehr ist diese Art der Kumulation so zu deuten, daß ein nach einer Digitaliswirkung — wenn auch vollständig erholtes Herz, dennoch in seiner Reaktionsfähigkeit für eine Zeit beschädigt bleibt, was auch die Versuche mit Erstickung eines nach Digitalisvergiftung erholten Herzens noch klarer demonstrieren. Es zeigt sich beim Erstickungsversuche eines aus Digitalisvergiftung erholten Herzens, daß es viel schwächer reagiert und leichter unterliegt als ein normales Herz.

4. Zusammenfassung der Ergebnisse.

1. Im Verlaufe einer stärkeren Vergiftung durch Stoffe der Digitalisgruppe verlieren die Vagusnerven ihre Erregbarkeit. Bei

1) Immer muß man bei wiederholter Reizung der Vagusstämme die lokale Ermüdung der Vagi auszuschließen suchen, was man am besten durch Reizung einer immer mehr herzwärts neu herauspräparierten Stelle verwirklicht.

der allmählichen Entwicklung dieser Lähmung erscheint der Vaguseffekt nach einer in bestimmten Zeitabschnitten wiederholten Vagusreizung immer später und später, als ob sich die Latenzzeit mehr und mehr verlängere. Schließlich treten die Vaguspulse auch nach einer sehr protrahierten (z. B. bis zur Dauer von anderthalb Minute Vagusreizung nicht ein. Die Vagusnerven sind „gelähmt".

Die Verlängerung der scheinbaren Latenz kommt dadurch zustande, daß die Vaguspulse mit dem Intensiverwerden der Vergiftung immer nach einer längeren und längeren Summation der Reize erscheinen. Es scheint als ob eine immer größere Blockierung der Hemmungsfunktion durch Summation der Reize durchgebrochen werden müßte.

2. Wenn aber einmal die Blockierung der Hemmungsfunktion durch Reizsummation durchgebrochen wird, so bleibt die (beginnende) Lähmung der Vagusnerven für 2—5 Minuten aufgehoben und kehrt nur allmählich wieder zurück. In dieser Zeit wird nach dem Gesagten jede Erregung der Vagusnerven durch die vorangehende Vagusreizung zeitlich gefördert.

3. Die Blockierung der Hemmungsfunktion der Vagusnerven wird durch das Physostigmin verstärkt und durch Apomorphin vermindert, was gut mit der Annahme übereinstimmt, daß sie durch eine Erhöhung der motorischen Funktion des Herzens verursacht werden könnte.

4. Die Vaguslähmung nach den helleboreinartig wirkenden Stoffen verschwindet in einer relativ kurzen Zeit von 30—50 Minuten.

5. Die Erholung der Hemmungsfunktion kommt dadurch zustande, daß die Vaguspulse bei einer wiederholten Reizung der Vagusnerven nach einer immer kürzeren „Latenz" wieder erscheinen.

6. Auch ein vollständig aus Digitalisvergiftung erholtes Herz bleibt eine Zeit für erhöhte Anstrengungen (z. B. während der Erstickung) weniger resistent und für eine neue Gabe irgend eines Digitalisstoffes sehr empfindlich. Dadurch entsteht eine paradoxe Kumulation, welche nicht auf der Summation der toxischen Wirkungen basiert, sondern durch eine die Funktion des Herzens beschädigende Wirkung der Digitalis verursacht wird.

XX.

Aus dem pharmakologischen Institut der Universität Heidelberg.

Der überlebende Uterus als Testobjekt für die Wertigkeit der Mutterkorn-Präparate.

Von

Privatdozent Dr. E. Kehrer.

(Mit 7 Kurven).

Die therapeutische Wertigkeit der Mutterkornpräparate hat man mittels chemischer und physiologischer Methoden zu bestimmen gesucht. Zur physiologischen Dosierung diente das Gangrän erzeugende Prinzip, seltener die Auslösung von Uteruscontractionen am trächtigen Tier oder der Einfluß auf die Blutgefäße.

Die trockene Gangrän, von Lorinser(1) 1824 zuerst experimentell am Hahn erzeugt, spricht sich in einer von der Spitze allmählich nach der Basis zu fortschreitenden Cyanose, schwarzen Verfärbung, Trockenwerden des Kammes und der Bartlappen aus und endet mit einer demarkierenden Entzündung und Abstoßung. Auch die Zungenspitze, die Ränder des harten und weichen Gaumens und des Kehldeckels, sowie die Flügel können unter Annahme einer weißen Farbe nekrotisch werden und sich in kleinen Stücken abstoßen. Ähnliche Veränderungen, vor allem Abfallen der Ohren, wurden schon von Salerne(2) 1755 und Read(3) 1771, später von Kobert(4) u. a. beim Schwein nach experimenteller Verabreichung von Mutterkorn beobachtet. Aber nur die Entstehung der Gangrän am Hahnenkamm diente in den Versuchen von Kobert, Grünfeld(5), Jacoby(6) als Testmethode für die Wertigkeit der einzelnen Secale-Präparate, und seitdem handelte es sich für alle folgenden Untersucher und Darsteller neuer Präparate um die Frage: welche Dosis bringt bei subcutaner Injektion eben noch eine Hahnenkammwirkung hervor? Hatte sich bei solchen physiologischen Prüfungsmethoden von Jaquet(7) z. B. gezeigt, daß Ergotin-Keller bei 4 ccm, das Dialysatum Golaz bei 5 ccm, subcutan injiziert,

eine Hahnenkammwirkung ausübt, so mußte das erstere Präparat das wirksamere von beiden auch für den Uterus sein.

Wertbestimmungen des Mutterkorns hat man auch mit chemischen Reaktionen versucht. Doch läßt sich mit ihnen nur der Gehalt an bestimmten Alkaloiden feststellen, über deren Bedeutung für die therapeutische Wirksamkeit des Mutterkorns bekanntlich noch keine Einigkeit besteht. So bestimmt C. C. Keller (8) in Ergotinen und Secaleinfusen den Cornutingehalt durch zwei von jedem Apotheker auszuführende Farbenreaktionen, von denen die erstere identisch ist mit der, die Tanret als charakteristisch für sein Ergotinin angab: es entsteht eine gelbbraune, später violettblaue Färbung bei Zusatz konzentrierter Schwefelsäure, und eine prächtige orangerote, an der Randzone bläuliche Färbung bei Lösung in konzentrierter Schwefelsäure nach Zugabe von Eisenchlorid.

Vielfach hat man zur Prüfung der Wertigkeit der Secale-Präparate die Gefäßwirkung herangezogen, wohl deshalb, weil man das Auftreten von Kontraktionen des Uterus auf eine Verengerung seiner Arterien und somit auf Anämie zu beziehen pflegte. Aber diese Anschauung wurde seither durch Versuche von Fellner (9) (1884) und Jolly (10) (1904) am lebenden Tier erschüttert, durch meine (11) Versuche am exstirpierten überlebenden Uterus definitiv widerlegt.

Mit Vorliebe wurden durchsichtige Froschteile auf Kork befestigt und ihre Gefäße mikroskopisch beobachtet: das Mesenterium von Briesemann (12), Potel (13), Hemmeter (14), die Schwimmhaut von Huizinga (15), Holmes (13), Lazarski (17) und Kobert (4), die Zunge von Holmes und Hermanides (18). Im Gegensatz zu diesen Untersuchern, welche eine Gefäßverengerung nach Injektion von Mutterkornpräparaten beobachteten, hat Haldimann (19) nach Einspritzung von Wenzells Ekbolin und Ergotin eine Gefäßverengerung an der Schwimmhaut von Kröten nicht nachweisen können, und Kobert bei Versuchen mit ergotinsaurem Natrium und Cornutin eher eine Erweiterung der Gefäße der Schwimmhaut und des Mesenterium beobachtet.

Die Inspektion der Gefäße kam auch in Anwendung zur vergleichenden Untersuchung der Mutterkornpräparate an Säugetieren. Als erster wollte Klebs (20) durch eine nicht einwandfreie Versuchsanordnung nach Ergotin Bonjean Gefäßkontraktionen an der Flughaut der Fledermaus nachgewiesen haben. Am Kaninchenohr wurde von Vogt, (21) Schüller, (22) Labort et Peton, (23) an Hautarterien, Ohrgefäßen und Arterien freipräparierter Fascien und der Pia von Wernich (24) der Einfluß der Secaleextrakte vergleichend studiert. Im Gegensatz zu Vogt haben Schüller, Wernich, Labort et Peton eine Gefäßverengerung beobachtet; auch Hemmeter hat sie am Ohr und Netz des Kaninchens durch ein Fluidextrakt von Secale und ein als Ergotol bezeichnetes Präparat konstatiert.

Schon 1872 studierten Nicol und Mossop (25) an sich selbst die Wirkung wässriger Mutterkornextrakte der Pharmakopoe und beobachteten ein Erblassen des Augenhintergrundes durch Kontraktion der Retinalgefäße. Wernich und Hemmeter aber hielten bei Wiederholung dieser Versuche die Methode für nicht beweisend wegen des schon physiologischer Weise sich schnell ändernden Kalibers der Netzhautgefäße, und Eulenburg (26) konnte eine Kontraktion derselben nach Injektion von Ergotininum citricum (Gehe) niemals beobachten.

Auch die Stärke des Blutausflusses aus durchschnittenen Arterien diente zur vergleichenden Untersuchung einer Reihe subkutan injizierter Mutterkornpräparate. So fand z. B. Vogt (21) nach Injektion wässriger Secaleextrakte in den Oberschenkel von Fröschen nach Amputation beider Unterschenkel eine geringere Blutung auf der injizierten Seite. Doch zeigen diese Versuche gleichwie zahlreiche ältere über die Gefäßwirkung der Mutterkornpräparate Fehler in der Anordnung, so daß sie schon 1875 von Zweifel (27) einer vernichtenden Kritik unterzogen wurden.

Einwandsfrei haben Ringer und Sainsbury (28) bei ihren Durchspülungsversuchen an der Schildkröte die Gefäßverengerung nach Mutterkornverabreichung festgestellt. Ließen sie ein- und zehnprozentige Ergotin-Bonjean-Lösung durch die Gefäße durchtreten, so konnten sie eine Kontraktion derselben beobachten, welche auf direkte Beeinflussung der Gefäßwand bezogen wurde. Dagegen hat Kobert eine Wirkung auf die Gefäße einer ausgeschnittenen, mit Blut und Ergotinin künstlich durchströmten Niere vermißt, und Dixon (29) hat bei ähnlichen Durchspülungs-Versuchen mit Ringerscher Lösung und flüssigen Mutterkornextrakten eher eine Gefäßerweiterung gesehen.

Das Verhalten des Blutdrucks haben Sollmann und Brown (30) nach intramuskulärer und intravenöser Injektion einer Reihe von Ergotinpräparaten vergleichend untersucht. Sie fanden eine primäre Senkung und eine folgende Steigerung des Blutdrucks, welche aber so gering und kurzdauernd war, daß ihr keine Bedeutung beigemessen wurde.

Auf ihre Blutdruckversuche gründen Barger und Dale (31) die neueste Testmethode zur Bestimmung der Wirksamkeit von Secalepräparaten. Barger und Dale gingen von der Beobachtung aus, daß Mutterkornpräparate und insbesondere das von ihnen dargestellte Ergotoxin alle erregenden Wirkungen aufheben, die durch eine Reizung „sympathischer“ Fasern (im Gegensatz zu jenen des kranialen und sacralen autonomen Systems) bedingt sind, daß sie dagegen die Hemmungswirkungen der sympathischen Fasern bestehen lassen. Deshalb bewirkt die Injektion von Adrenalin, das nach

Elliot, Langley, Anderson, Dale auf alle Organe so wirkt, wie Reizung der zugehörigen sympathischen Nerven, nach Einspritzung einer genügenden Dosis eines wirksamen Mutterkornpräparates nicht mehr wie in der Norm Blutdrucksteigerung, sondern im Gegenteil eine Drucksenkung. Barger und Dale benützten diese Umkehr der Adrenalinwirkung, das „Phänomen der vasomotorischen Umkehrung“ durch Secale zur Ausarbeitung einer Testmethode, indem sie die kleinste Dosis ihrer Mutterkornpräparate bestimmten, welche noch imstande war, diese Umkehr der Adrenalinwirkung auf den Blutdruck hervorzurufen.

Die nächstliegende Methode zur Beurteilung der therapeutischen Wertigkeit der Mutterkornpräparate wird immer die Prüfung an dem Organ sein, auf das sie wirken sollen. Die Prüfung der Mutterkornpräparate am Uterus reicht zurück bis auf Diez(32), der sich 1831 eines Verfahrens bediente, das in der Folge immer wieder Nachahmung fand: die Beurteilung der Mutterkornwirksamkeit nach dem erfolgten Geburtseintritt. Da aber die Unterbrechung der Schwangerschaft bei allen möglichen Allgemeinerkrankungen und Vergiftungen einzutreten pflegt: in Gefolge von Krämpfen, Erstickungsanfällen, im Coma, also in Zuständen, die zum toxikologischen Bild der Mutterkornvergiftung gehören können, da umgekehrt trotz der Wirkung auf den Uterus die Ausstoßung der Früchte unterbleiben kann, weil es auf die Dauer der Kontraktionen, vor allem aber auf den Zeitpunkt der Schwangerschaft ankommt, so kann aus dem Geburtseintritt kaum auf die Wertigkeit der Secalepräparate geschlossen werden.

Besser ist ein Verfahren, bei welchem der durch Bauchschnitt sichtbar gemachte Uterus des im Kochsalzbad liegenden Tieres beobachtet wird, wie es Vahlen(33) bei seinen Clavinversuchen neuerdings wieder getan hat; aber spontane oder durch Bewegungen, Schreien, momentanen Sauerstoffmangel hervorgerufene Uteruskontraktionen können dabei sehr leicht als Wirkung der Mutterkornpräparate angesehen werden, wie ich in zahlreichen Versuchen beobachten konnte. Narkose ist daher eine unerläßliche Vorbedingung.

Weit einfacher und einwandsfreier ist die in den folgenden Versuchen angewandte physiologische Wertbestimmungsmethode für Mutterkornpräparate, bei welcher der exstirpierte, überlebende Uterus seine Bewegungen länger als 12 Stunden graphisch registrieren kann. Mit dieser Methode vermögen wir uns über die Wirksamkeit der großen Zahl der im Handel

befindlichen und therapeutisch sehr verschieden zu bewertenden Secalepräparate auf objektiver Basis ein Urteil zu bilden.

Die in meinen Arbeiten: „Physiologische und pharmakologische Untersuchungen an den überlebenden und lebenden inneren Genitalien“ (11) und „Über die Wirkung von Hydrastis- und Cotarninpräparaten auf Uterus und Blutdruck“ (34) bereits angegebene Untersuchungsmethode entspricht der von Magnus (35) zuerst für den überlebenden Dünndarm gebrauchten. Sie beruht im Prinzip darauf, daß das Uterushorn eines eben getöteten Tieres nach Abtrennung von der Cervix in einer Glasschale mit 200 ccm Ringerscher Flüssigkeit von Körpertemperatur zur graphischen Registrierung seiner automatischen Kontraktionen suspendiert wird. Diese letzteren erfolgen, wie ich im Einzelnen bereits mitgeteilt (11) an Uterushorn, Cervix und Vagina in verschiedener Weise, und die pendelförmigen Spontanbewegungen des Uterushorns sind beim nicht graviden und nicht puerperalen Tier ziemlich gleichmäßig.



Fig. 1. (Versuch 8. I. 07.)
Uterushorn der Katze mit pendelförmigen automatischen Bewegungen. Auf 7 mg Secale-Infus. zu 200 ccm R. Fl. Verstärkung der Kontraktionen, dann Tonussteigerung. Auf die zweite größere Dosis von 5 cg kein deutlicher Effekt.

Der Einfluß der Mutterkornpräparate auf die Uterushornbewegungen ist aus den Typen in den Abbildungen 1—4 ersichtlich.

Eine erregende Wirkung kann sich äußern:

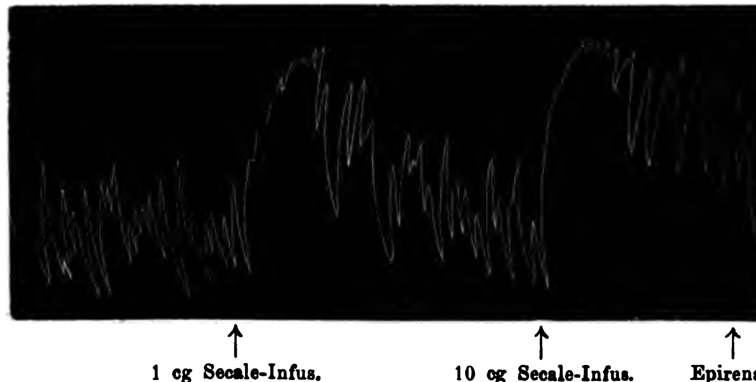
1. durch Verstärkung der automatischen Bewegungen mit oder ohne Tonussteigerung (Fig. 1),

2. durch vorübergehende Tonussteigerung bei weiterhin gleichbleibendem Rhythmus der Einzelkontraktionen (Fig. 2),

3. durch staffelförmiges Ansteigen des Tonus bei schwachen im Kontraktionszustand erfolgenden Bewegungen (Fig. 3),

4. durch Tetanus uteri (Fig. 4).

Am schwangeren Tier zeigt sich die Erregung etwa in der Figur 5 und 6 angegebenen Weise, indem das Mutterkornpräparat bald die Wehen verstärkt ohne ihren Typus, besonders die Pausen



1 cg Secale-Infus. 10 cg Secale-Infus. Epirenan

Fig. 2. Uterushorn der Katze. Auf 1 cg Secale-Infus. zu 200 ccm R. Fl. erfolgt eine starke Kontraktion, welche allmählich in den früheren Typus der Pendelbewegungen übergeht. 10 cg haben den gleichen Effekt. Später verabreichtes Epirenan erzeugt Hemmung der Uterusbewegungen.

zwischen den Kontraktionen zu ändern, bald mehr weniger gleichmäßige, reguläre ausgiebige Kontraktionen oder einen tetanischen Zustand herbeiführt.



0,0001 ccm Ergotin-Bonjean

Fig. 3. Starke fast tetanische Kontraktion des halben Uterushorns einer jungen Katze durch Ergotin-Bonjean.

Zu den Versuchen am überlebenden Uterus wurden Katzen verwendet, da deren muskulöse Uterushörner sich weit brauchbarer erwiesen, als die dünnwandigen, spiralig gedrehten des Kaninchens. Mechanische Reize durch Berührung mit der Pinzette oder der Glasschale, durch stärkere Sauerstoffwirbel in der Ringerschen Flüssigkeit usw. wurden tunlichst vermieden, weil man den Effekt der der Ringer'schen Flüssigkeit zugesetzten Mutterkornpräparate um so besser beurteilen kann, je regelmäßiger die einzelnen automatischen

Uteruskontraktionen verlaufen. Daher mußte von der Cervix und vom graviden Uterus tunlichst, vom puerperalen Organ ganz abgesehen werden, da vor allem bei dem letzteren die automatischen Bewegungen nach der Exstirpation sowohl wie im lebenden Organismus ziemlich gleichmäßig sind und im überlebenden Zustand sehr bald sistieren. Der Uterus der jungen Katze wie derjenige, der vor Monaten einmal als Fruchthalter gedient hat, eignet sich am besten zu diesen Versuchen, und nur in einem Monat des Jahres — im Januar 1906 und Januar 1907 — fand ich bei fast allen Tieren trägere unregelmäßige Spontanbewegungen der Uterushörner, so daß dieser Monat und die Zeit, zu der Gravidität und Puerperium erfolgt, für die Testversuche nicht günstig sind. Es empfiehlt sich gesunde, möglichst kurze Zeit in der Gefangenschaft gehaltene, am besten jungfräuliche Katzen auszuwählen und die obere Hornhälfte oder das ganze Horn mit seiner Spitze die Bewegungen aufschreiben zu lassen, da diese letzteren immer



↑ 0,001 ccm Ergotin Bonjean

Fig. 4. (Versuch 6. VIII. 06.) Automatische Pendelbewegungen der oberen Hälfte des Uterushorns. Momentane tetanische Kontraktion auf 0,001 ccm Ergotin Bonjean zu 200 ccm R. Fl.



0,001 ccm Ergotin Denzel →

Fig. 5. (Versuch 4. V. 07.) Gravide Katze etwa Ende der 2. Schwangerschaftswoche. Untere Hälfte des nicht graviden Horns ohne automatische Bewegungen. Auf 0,001 ccm Ergotin Denzel erfolgen die energischen, trägen, der Schwangerschaft charakteristischen Bewegungen, von langen Pausen unterbrochen. (Wehentypus.)

besten automatischen Kontraktionen zeigt. Die Behauptung, das infantile Organ keine ıtanbewegungen ausführt, ich bereits früher (11) ırlegt; selbst der sehr ıe fadenförmige Uterus der eborenen Katze oder eines enfötus aus dem Ende der rangerschaft läßt sich bei endung der nötigen Vorzu Testversuchen veren.

ım Ausgangspunkt der ıche diente Mutterkorn, hes im Sommer 1906 genelt und unter gewißen elen trocken aufbewahrt

Gramm des grobkörnigen ers wurden in verschien Versuchen, die in die ıte Oktober 1906 bis Deer 1907 fielen, mit je ɔm destilliertem Wasser, iologischer Kochsalzlösung Ringerscher Flüssigkeit ıtzt und 4 1/2 Stunden im ıchrank bei einer Temır von 38° C gehalten. ɾotviolette Filtrat (10 proz. ɾat von Secale cornutum) .e unmittelbar nach der tellung zu der das Uterusırat umspülenden Ringerı Flüssigkeit (200 ccm) ıetzt.

ie minimale am Uterusnoch wirksame Dosis des ıen wässrigen Extraktes ɾach in 3 von 6 Fällen 0,007 g des Mutterkornpulvers; in ällen genügte eine 0,01 g dieses Ausgangsmaterials entspre-



Fig. 6. (Versuch 26. III. 07.) Trächtige Katze etwa aus der 3. Woche. Taubeneigroßer Fruchtsack ohne Spontanbewegungen. Auf $\frac{1}{10\,000}$ Secacornin-Roche beginnen kontinuierliche, träge, von Pausen unterbrochene Uteruskontraktionen, welche auf 0,1 ccm tetanischen Charakter annehmen.

chende Menge des Mazerats, um deutliche Erregung hervorzurufen. Die wirksame Dosis liegt demnach ungefähr bei 1 : 20000.

Diesen Grenzwert von 1 cg auf 200 ccm wollen wir in Zukunft als „Einheit" bezeichnen.

Finden wir z. B. bei einem Ergotinpräparat die minimale wirksame Dosis am überlebenden Uterus bei 0,001 g: 200 R. Fl. d. h. eine Wirksamkeit von 1 : 200000, so entspricht die wirksame Dosis dem zehnten Teil einer „Einheit", d. h. es entspricht 0,01 g des Präparats 10 Einheiten, oder das untersuchte Ergotinpräparat ist 10 mal wirksamer als das Mutterkornpulver.

Auch die Wirksamkeit des Secale cornutum der Ernten verschiedener Jahre und Gegenden läßt sich nach diesen „Einheiten" vergleichen. So habe ich das von uns verwendete Mutterkorn vom Sommer 1906 im November 1906 verglichen mit dem aus 2 Apotheken bezogenen, bei der gleichen Jahresernte aber von verschiedenen Gegenden gewonnenen und die Wirksamkeit der beiden letzteren bei 1 bis 1,2 cg feststellen können, während sich bei einem aus unserer Droge frisch bereiteten Infus schon bei 7 mg —1 cg ein Effekt zeigte.

Um nun zu prüfen, in welchem Grad bei der gewöhnlichen Aufbewahrung des Secale cornutum in den Apotheken eine Zersetzung der auf den Uterus wirkenden Bestandteile eintritt, untersuchte ich vergleichend Mutterkorn der Ernten 1905, 1906 und 1907. Die letzten Prüfungen fanden Mitte Dezember 1907 statt. Während das aus der Apotheke bezogene Secalepulver von der Ernte 1906 bei der Prüfung im November 1906, wie schon erwähnt, bei der Dosis von 1 bis 1,2 cg sich wirksam zeigte, war sein Wirkungswert am 19. Dezember 1907 etwa auf das 7fache gesunken; es waren 7—8 cg erst die wirksame Dosis. Mutterkorn von der Ernte 1905 wirkte im Dezember 1907 erst bei der Dosis von 15 cg.

Aus dieser vergleichenden Untersuchung geht hervor, daß die Wirksamkeit des Mutterkorns auf den Uterus bei der Aufbewahrung der Droge in den Apotheken innerhalb eines Jahres sich um das 7—8fache, innerhalb von zwei Jahren um etwa das 15fache abschwächt.

Vergleicht man dieses bei der Verwendung des überlebenden Uterus als Testobjekt gewonnene Resultat mit den Ergebnissen der physiologischen Prüfung am Hahnenkamm, welche besonders Kobert und Grünfeld ausgeführt haben, so ergibt sich ein für die Haltbarkeit des Mutterkorns in bezug auf seine Uterus-Wirkung weit gün-

stigeres Resultat. Die aus der Untersuchung am Hahnenkamm hergeleitete Angabe, daß der wirksame Bestandteil des Mutterkorns schon nach etwa 6 Monaten vollkommen zersetzt sei, trifft auf die Uteruswirkung nicht zu. Ich betrachte dies als ein wichtiges Ergebnis des Dosierungsverfahrens am überlebenden Uterus. Doch ist die Abschwächung immerhin noch eine so große, daß sie die Vorschrift des Arzneibuchs rechtfertigt, das Mutterkorn der vorhergehenden Ernte zur Zeit der neuen Ernte durch die frische Droge zu ersetzen. Gleichzeitig geht aus diesen Untersuchungen hervor, wie wünschenswert es wäre, die in ihrer Wirksamkeit sich allmählich abschwächende Droge durch Präparate konstanter Wirksamkeit zu ersetzen.

Da die von mir gewählte Methode der Mutterkornextraktion (4½ Stunden bei Brutschranktemperatur) eine willkürliche war, mußte untersucht werden, wie rasch die Extraktion des wirksamen Prinzips bei einer gewählten Temperatur beendet ist, und ob die Extraktion bei höherer Temperatur vollständiger wird. Die in dieser Richtung angestellten Versuche lehrten folgendes:

1. Der 2 Stunden im Brutschranke bei 38 ° C gehaltene Auszug ist etwas weniger wirksam auf den Uterus als bei 4½stündigem Aufenthalt.

2. Extrahiert man das Mutterkorn 4½ Stunden im Brutschranke bei 38° C und setzt es sodann noch eine halbe oder eine Stunde einer Temperatur von 80—98° C im Wasserbad aus, so ist das Filtrat wirksamer als wenn es nach 4½ Stunden Aufenthalt im Brutschrank sofort geprüft wird.

3. Durch 5 Minuten langes Kochen des Mutterkorns in 10 Proz. Lösung wird ein stärker wirkendes wässriges Extrakt erhalten als bei 4½stündigem Brutschrank-Aufenthalt.

Auch das filtrierte Mazerat verträgt 5 Minuten langes Aufkochen ohne Änderung seiner uterinen Wirksamkeit.

Um den Einfluß der verschieden langen Aufbewahrungszeit auf die filtrierten wässrigen Mutterkornextrakte festzustellen, prüfte ich ihre Uteruswirkung zu verschiedenen Zeiten nach der Herstellung und fand: je älter das Secale-Mazerat, umso schwächer die Wirkung und umso größer die anzuwendende Dosis. Das beruht auf einer je nach der Zimmertemperatur schon nach 1 bis 3 mal 24 Stunden beginnenden Zersetzung, bei welcher die anfangs schön rot-violette Flüssigkeit einen gelblichen, schmutzigen Ton und einen fauligen süßlichen Geruch annimmt. Aber noch wenn die Flüssigkeit ihre rot-

Einer „Einheit“ entsprechen von:		Effekt auf den überlebenden Uterus bei Verdünnung von	Folglich entspricht bezogen auf „Einheiten“	Folglich entspricht bezogen auf Secale cornutum	Angaben der Fabrik über Injektionsdosis	Angaben der Fabrik über Wertigkeit im Vergleich zu Secale cornutum
Ergotin dialysat. Wernich (Merck)	0,0001 ccm	1 : 2 Millionen	1 ccm = 10 000 E	= 100 g	?	1 ccm = 3 g Sec.
„ Bonjean (Merck) (= Extr. secal. cornut Ph. G. IV)					0,2 ccm	1 ccm = 5—6 g Sec.
„ Bonjean depurat. (Merck)					0,5 ccm	—
„ Denzel					0,2 ccm	1 ccm = 8 g Sec.
Secacornin Roche					0,5—1 ccm	1 ccm = 4 g Sec.
Ergotin Yvon	0,001 ccm	1 : 200 000	1 ccm = 1000 E.	= 10 g	0,5—1 ccm	1 ccm = 1 g Sec.
„ Fromme					0,1—0,4 ccm	1 ccm = 5 g Sec.
Ergot aseptic (Parke-Davis)	0,005 ccm	1 : 40 000	1 ccm = 500 E	= 5 g	1 ccm	1 ccm = 2 g Sec.
Extract. fluid. Secal. cornut. (Parke-Davis)					—	1 ccm = 1 g Sec.
Cornutin. ergotic. Bombelon	0,01 ccm	1 : 20 000	1 ccm = 100 E.	= 1 g	0,2—0,5 ccm	1 ccm = 2 g Sec.
Secal. cornut. dialysat. Golaz					2 ccm	
Ergotin Nienhaus					1 ccm	—
Ergotinol Vosswinkel					1 ccm	1 ccm = 1 g Sec.
Ergotin Kohlmann	0,05 ccm	1 : 4000	1 ccm = 50 E.	= 0,5 g	4—5 ccm	1 ccm = 1 g Sec.
„ St. Jakob	0,5 ccm	1 : 400	1 ccm = 5 E	= 0,2 g	—	1 ccm = 1 g Sec.
Ergotinin Tanret	0,5 ccm (?)	1 : 400 (?)	1 ccm = 5 E.(?)	= 0,2 g (?)	1 ccm	?
Sklerotinsäure < Dragendorff (Merck) / Podwyssotzki (Merck)	0,001 g	1 : 200 000	1 g = 1000 E.	= 10 g	0,05 g	—
Cornutin pur. (Merck)	0,005 g	1 : 40 000	1 g = 500 E.	= 5 g	—	—
Ergotinin pur. Gehe						
„ citric. Gehe						
Spasmotin = Chrysotoxinnatrium-Jacoby (Boehringer)						
Secale cornutum	0,01 g	1 : 20 000	1 g = 100 E.	—	—	—
Ergotin pur. Wiggers (Merck)	?	?	?	?	—	—
Clavin-Vahlen (Merck)	—	—	—	—	—	—
Ergotinsäure Zweifel (Merck)	—	—	—	—	—	—

violette Farbe besitzt, z. B. am zweiten Tag nach der Herstellung, kann der auf den Uterus wirkende Stoff bereits zerstört sein. Daraus folgt, daß die Zersetzung der auf den Uterus wirkenden Bestandteile rascher verläuft, als die Zersetzung des Farbstoffs.

Zersetzte Lösungen können, anstatt Bewegungen hervorzurufen, den Uterus zum sofortigen Absterben bringen, so daß nachfolgende Anwendung hochwertiger Präparate oder mechanischer Reize wirkungslos werden.

Mit der besprochenen Dosierungsmethode wurde die physiologische Wertigkeit einer Reihe von Mutterkornpräparaten des Handels geprüft. Um ihre Wirksamkeit nach einem einheitlichen Maßstab bestimmen zu können, habe ich sie auf die „Einheit" bezogen. Wir verstehen, wie schon gesagt, darunter diejenige Menge eines frischen Mutterkornpulvers, welche eben imstande ist, nach dem von uns gewählten Extraktionsverfahren bei Zusatz zu 200 ccm Ringerscher Flüssigkeit eine deutliche Erregung am überlebenden Uterus zu bewirken.

In der ersten Reihe der Tabelle ist die kleinste auf den überlebenden Uterus wirksame Dosis der einzelnen Ergotine in „ccm", der pulverförmigen Mutterkornpräparate in „gramm" angegeben; diese Menge, zugesetzt zu 200 ccm Ringerscher Flüssigkeit, entspricht der in der 2. Kolonne vermerkten eben wirksamen Verdünnung. In der 3. uud 4. Reihe finden sich die Angaben wie vielen „Einheiten" 1 ccm resp. 1 g des Mutterkornpräparats entspricht, und welchen Mengen von Secale cornutum diese Dosis äquivalent wäre.

In den beiden letzten Rubriken habe ich die Mitteilung der Fabriken über die zu injizierende Dosis und über die Wertigkeit ihrer Präparate im Vergleich zu Secale cornutum meinen Ergebnissen gegenübergestellt. Da diese Angaben sich bekanntlich auf Versuche am Hahnenkamm beziehen, ist von vorne herein keine Übereinstimmung zu erwarten. Vergleicht man aber die von Fabriken vorgeschlagenen Injektionsdosen der einzelnen Präparate mit ihrer Wirksamkeit am Uterus, so ergibt sich durchweg, daß, nach der physiologischen Wirksamkeit beurteilt, weit stärkere Dosen für die Injektion beim Menschen dienen, als man sie in Form des Mutterkornpulvers anzuwenden pflegt. Diese Tatsache beweist, daß für den auf den Uterus wirksamen Bestandteil der Abstand der toxischen von der therapeutisch bereits effektvollen Dosis ein sehr großer sein muß; denn Vergiftungserscheinungen bei der

therapeutischen Anwendung der physiologisch sehr hochwertigen Ergotine kommen verhältnismäßig selten vor.

Ein Beispiel soll das Gesagte erläutern und zur Orientierung in der Tabelle dienen: Das bekannte Secacornin-Roche wirkt noch auf den überlebenden Uterus, wenn 0,0001 ccm zu 200 Ringerscher Flüssigkeit gegeben werden, d. h. bei einer Verdünnung von 1:2 Millionen. Es wirkt also 0,0001 ccm genau ebenso wie 1 cg Secale cornutum, d. h. wie eine „Einheit“, und 1 ccm Secacornin entspricht demnach 1000 „Einheiten“ oder 100 g Secale cornutum. Die therapeutisch genügende, 1 g Mutterkorn äquivalente Dosis ist 0,01 ccm. Nach Angaben der Fabriken aber soll 0,5—1 ccm d. h. 50—100 mal mehr injiziert werden und 1 ccm Secacornin soll 4 g Secale cornutum entsprechen, während er nach meinen Versuchen 100 g äquivalent ist.

Bevor wir im einzelnen auf die in der Tabelle zusammengestellten Versuche eingehen ist zu bemerken, daß nur die wasserlöslichen Ergotine und Pulver bei unserer Versuchsanordnung völlig einwandsfreie Beurteilung finden können, da die wasserunlöslichen und alkohollöslichen Präparate: wie die Ergotinine von Gehe, das Cornutin, ferner das Ergotin Wiggers und das Tanretsche Ergotinin bei Zugabe zu der das Mutterkornpräparat enthaltenden Ringerschen Flüssigkeit zum Teil wieder ausfallen; trotzdem ließ sich auch bei ihnen eine uterine Wirkung deutlich erkennen, welche, wie Kontrollversuche zeigten, nicht auf den Alkohol zu beziehen war.

Die Ergotinpräparate wurden bei Dosen unter 0,1 ccm vor der Zugabe zu der das Uterushorn umgebenden Ringerschen Flüssigkeit verdünnt; so konnte eine gleichmäßigere durch die einströmenden Sauerstoffperlen unterstützte Verteilung der wirksamen Flüssigkeit und eine allseitige Berührung mit dem Muskelpräparat erfolgen.

Von 8 mit Ergotin-Wernich (Merck) ausgeführten Versuchen ist einer in Abbildung 7 wieder gegeben. Auf das nur geringe Spontanbewegungen zeigende Uterushorn einer kräftigen Katze sind 0,00001 ccm: 200 ccm Ringerscher Flüssigkeit noch ohne Effekt, aber auf weitere 0,0001 ccm erfolgt bereits eine sehr kräftige Kontraktion von tetanusähnlichem Charakter. In diesem Versuch wurde später 1 mg Nikotin gegeben, welches nach meinen früheren Untersuchungen (11) anfänglich Hemmung, dann Erregung herbeiführt; doch steht der Uterus nach Ablauf von etwa 1/4 Stunde noch so sehr unter dem Einfluß der kleinen Dose von Ergotin-Wernich, daß die Anfangshemmung der Nikotinwirkung ausbleibt, ja vielmehr ein weiteres kurzes Erregungsstadium, also eine Umkehr der Reaktion eintritt.

Bei einer Dosis von 0,001 ccm oder 0,1 ccm und darüber (3 Versuche) folgt in der Regel momentaner Tetanus, indem der Uterus 1/2 Stunde

überlebenden Uterus der in der 1. bis 2. Woche der Schwangerschaft befindlichen Katze in 4 Versuchen verwendet wurde. Auf die Anfangsdosis von 0,001 ccm erfolgte zweimal Erregung, das andere Mal kein Effekt. Die minimale wirksame Dosis der Ergotin-Bonjean-Extrakte liegt also ungefähr bei 0,0001 ccm zu 200 ccm Ringerscher Flüssigkeit, sie wirken noch bei einer Verdünnung von 1 : 2 Millionen.

Das Denzelsche Ergotin wurde in 34 Versuchen geprüft. Diese große Zahl erklärt sich dadurch, daß das Präparat als das erste von allen Ergotinen untersucht werden und zur Orientierung dienen mußte. Auch dieses Ergotin ist noch in der minimalen Menge von 0,0001 ccm d. h. in einer Verdünnung von 1 : 2 Millionen wirksam.

Secacornin-Roche wurde in 11 Versuchen in seiner Wirkung auf den überlebenden Uterus geprüft. Bei Zugabe von 0,005 und 0,01 ccm: 200 ccm Ringerscher Flüssigkeit, d. h. bei einer Verdünnung von 1 : 40000 bis 1 : 20000, tritt die Neigung des Uterus zu tetanischen Kontraktionen bereits hervor. Die minimale wirksame Dosis liegt bei 0,0001 ccm : 200 ccm Ringerscher Flüssigkeit, d. h. bei einer Verdünnung von 1 : 2 Millionen.

Ergotin-Yvon, in 4 Versuchen geprüft, erwies sich noch wirksam auf den Uterus bei Zugabe von 0,001 ccm auf 200 ccm Ringerscher Flüssigkeit, was einer Verdünnung von 1 : 200000 entspricht.

In 6 Versuchen mit Ergotin-Fromme führte eine Dosis von 0,005 ccm : 200 ccm Ringerscher Flüssigkeit zu mäßig starker Erregung. Bei Dosen von über 0,01 ccm auf 200 ccm Ringerscher Flüssigkeit läßt sich zuweilen schon die Neigung zu tetanischen Kontraktionen erkennen. Die erregende Minimaldosis liegt demnach bei einer Verdünnung von 5 : 200000 oder 1 : 40000.

Die folgenden Ergotinpräparate von Parke — Davis, Bombelon, Golaz, Nienhaus und Vosswinkel stehen bezüglich ihrer Wirksamkeit auf der gleichen Stufe: 0,01 ccm : 200 ccm Ringerscher Flüssigkeit führen noch eine Erregung der Uteruskontraktionen herbei, sie wirken noch bei einer Verdünnung von 1 : 20000. Von der Firma Parke-Davis u. Comp. kamen zwei Präparate zur Anwendung: das Extractum fluidum Secale cornutum in 7, das Ergot aseptic in 5 Versuchen. Von Secale cornutum dialysatum Golaz wurde das zur oralen, wie das zur subkutanen Verabreichung sterilisierte Präparat in je drei Versuchen in analogen Dosen geprüft. Ein Unterschied in der Wirkung beider ist nicht vorhanden, die Sterilisierung zerstört das wirksame Prinzip nicht.

Für Ergotin Kohlmann, das in 4 Versuchen angewendet wurde, ergab sich eine Wirksamkeit auf den Uterus erst bei einer Dosis von 0,03—0,05 ccm auf 200 ccm Ringerscher Flüssigkeit, 0,1 ccm hat einen stärkeren Effekt. Die minimale Dosis liegt demnach bei einer Verdünnung von 5 : 20000 oder 1 : 4000.

In 5 Versuchen mit Ergotin St. Jakob an einer jungen und zwei puerperalen Katzen war 0,1 und 0,3 ccm noch unwirksam, während auf zweimal 0,3 = 0,6 ccm bei dem einen und auf 0,1 und 0,5 = 0,6 ccm bei dem anderen Uterushorn ziemlich starke Kontraktionen erfolgten.

Die minimale wirksame Dosis liegt demnach ungefähr bei 0,5 ccm: 200 ccm Ringerschen Flüssigkeit = bei einer Verdünnung von 5 : 20000 oder 1 : 4000.

Die Wirkung der wasserlöslichen Sklerotinsäure von Dragendorff und Podwyssotzki (je 4 Versuche) und der in 5 prozentiger Alkohollösung verwendeten Präparate von Cornutin (Merck) (2 Versuche), Ergotininum purum (6 Versuche) und Ergotininum citricum (Gehe) (2 Versuche) ergibt sich aus der Tabelle.

Die Lösung von Ergotinin Tanret, die sofort nach der Öffnung des den Stempel vom 15. Februar 1906 tragenden Fläschchens im Januar 1907 zur Verwendung kam, wurde in Gaben unter 0,1 ccm : 200 ccm Ringerscher Flüssigkeit ohne Wirkung gefunden; erst 0,5 ccm etwa regten die uterinen Kontraktionen an. Doch kann hier von keinen ganz genauen Resultaten gesprochen werden, da sich bei der Zugabe zur Ringerschen Flüssigkeit eine deutliche Trübung derselben zeigte, und der Gehalt an Aq. amygdal. amar. die uterine Wirkung vielleicht kompliziert. Das Gläschen mit dem Stempel vom Mai 1905 hatte im Januar und Februar 1907 auf den überlebenden Uterus keine Wirkung, so daß man wohl annehmen muß, bei längerer Aufbewahrung gehe das wirksame Prinzip zugrunde.

Spasmotin wirkt auf den überlebenden Uterus noch in Gaben von 0,005 gr : 200 Ringerscher Flüssigkeit, d. h. bei einer Verdünnung von 1 : 40 000. 1 mg besitzt noch keinen deutlichen, 5 mg einen deutlichen und 1 cg einen starken Effekt auf den Uterus. Auch in 3—4 Wochen lang aufbewahrten Lösungen ist das wirksame Prinzip unverändert enthalten.

Mit Vahlen's Clavin wurden 33 Versuche mit 2 Sendungen der Merckschen Fabrik vorgenommen, um das Präparat, dessen Wirksamkeit nach Vahlen's Publikationen anzunehmen war, zu beurteilen. Unter diesen 33 Fällen aber, zu denen stets frische Lösungen verwendet wurden, war die Clavinlösung nur in 4 Versuchen bei den hohen Gaben von 5, 7,5 und 15 cg und in einem Fall bei Zugabe von 0,02 g einer Clavin-Zuckertablette ganz schwach wirksam. Aber auch Traubenzucker allein besitzt nach 2 Kontrollversuchen eine leicht erregende Wirkung in Dosen von 2 cg: 200 ccm Ringerscher Flüssigkeit. In allen anderen Fällen war durch Clavin in Dosen von 1—10 und 20 cg kein erregender Einfluß auf die Kontraktionen des überlebenden Uterus zu konstatieren. Danach kann dem Clavin eine periphere Wirkung auf den überlebenden Uterus nicht zukommen. An anderer Stelle(36) habe ich über Versuche mit Clavin am lebenden Uterus berichtet und bei ihnen auch eine zentrale Wirkung auf den Uterus vermißt.

Nun läßt sich gegen meine Prüfung der Mutterkornpräparate am überlebenden Uterus noch der Einwand erheben, eine Reihe von

ihnen enthalte Verunreinigungen wie Säuren, Kalisalze, Natriumbiphosphat, Cholin usw., welche möglicherweise nicht ohne Einfluß auf die Uterusbewegungen sein könnten. In erster Linie kommt hier die saure Natur einzelner Präparate in Betracht. Eine einfache Rechnung ergibt aber, daß die angewandten Mengen der Mutterkornpräparate so außerordentlich klein sind, daß ihre Acidität eine Wirkung auf den Uterus nicht vortäuschen kann.

Zur Neutralisation von 0,1 ccm Ergotin Golaz oder Ergot aseptic oder Cornutin Bombelon, unter Anwendung von Phenolphtaleïn als Indikator, genügte z. B. 0,1 ccm $^1/_{10}$ normal NaOH, während zur Neutralisation von 0,1 ccm Ergotin Denzel die allerdings große Menge von 1,3 ccm $^1/_{10}$ normal NaOH erforderlich war.

Da nun bei der Verteilung auf 200 ccm Ringerscher Flüssigkeit 0,1 ccm $^1/_{10}$ n. HCl zu einer kaum erkennbaren Erregung der Uteruskontraktionen führten, während die gleiche Menge $^1/_{10}$ n. H_2SO_4 die Bewegungen anregte, wäre bei einer Dosis von 0,1 ccm der drei eben zuerst genannten Ergotine auf 200 ccm Ringerscher Flüssigkeit ein Einfluß der Säure als solcher auf den Uterus wohl möglich. Bei der Prüfung noch kleinerer Mengen von $^1/_{10}$ n.HCl oder $^1/_{10}$ n. H_2SO_4 erhielt ich aber immer negative Resultate.

Da aber die Ergotindosen, welche auf den überlebenden Uterus noch wirksam waren, 10 bis 100, ja 1000 mal kleiner waren als 0,1 ccm $^1/_{10}$ Normal-Säure entspricht, so ist eine Beeinflussung unserer Versuchsergebnisse durch die saure Natur der Substanzen ausgeschlossen, zumal auch die nicht neutralisierte Ergotinsäure Zweifel (Merck) den überlebenden Uterus selbst in höheren Dosen in kaum erkennbarer Weise anregt.

Aus der geringen physiologischen Wertigkeit des Cornutin, Ergotinin, Spasmotin und der Sklerotinsäure im Vergleich zu vielen Mutterkornextrakten scheint hervorzugehen, daß in ersteren die wirksame Substanz des Secale cornutum nicht in reiner Form vorliegen kann. Nach der neuesten Mitteilung von Barger und Dale existieren im Mutterkorn überhaupt mehrere auf die glatte Muskulatur wirkende Substanzen. Zu diesem Schluß führt beider Autoren Beobachtung, daß ihr wirksames Alkaloid Ergotoxin in verschiedenen Extrakten der englischen Pharmakopoe in irgend erheblichen Mengen nicht nachweisbar war.

Auch ist die Reizwirkung der flüssigen Extrakte auf glatte Muskulatur nach Barger und Dale „viel zu stark, als daß

man sie auf die Menge des anwesenden Ergotoxins zurückführen könnte."

Bemerkenswert ist weiter, daß die Ergotinine von Gehe und das Cornutin Kobert (Merck) bei genau derselben Verdünnung von 1 : 40000 auf den überlebenden Uterus wirken. Will man diese Übereinstimmung nicht als eine zufällige betrachten, so spricht sie für die von anderer Seite behauptete Identität der beiden Präparate.

Die wichtigeren Ergebnisse der vorstehenden experimentellen Untersuchungen können in folgenden Sätzen zusammengefaßt werden:

1. Das überlebende Uterushorn der Katze läßt sich bei der angegebenen Versuchsanordnung als bestes und einwandsfreiestes Objekt für die Wertbestimmung der Mutterkornpräparate verwenden.

2. Wenn man die minimale wirksame Dosis von 0,01 g Secale cornutum auf 200 ccm Ringerscher Flüssigkeit als „Einheit" zum Maßstab für die Wirksamkeit der verschiedenen Mutterkornpräparate nimmt, so gelangt man zu unter einander vergleichbaren Werten und kann bestimmen, wieviel „Einheiten" 1 ccm oder 1 g eines Mutterkornpräparates entspricht (vgl. Tabelle).

3. Bei Aufbewahrung der Droge in den Apotheken wird die Wirksamkeit des Mutterkorns auf den Uterus nach einem Jahr 7—8 mal, nach 2 Jahren etwa 15 mal schwächer. Die Versuche von Kobert und Grünfeld über den Eintritt der Gangrän am Hahnenkamm hatten im Gegensatz dazu bekanntlich die Wirkungslosigkeit des Mutterkornpulvers schon nach einem halben Jahre ergeben. Es spricht dies dafür, daß der Gangrän erzeugende und der auf den Uterus wirkende Bestandteil des Secale cornutum verschieden sind.

4. In derselben Weise wie die frischen Mutterkornextrakte wirken auch verschiedene Ergotine des Handels sehr intensiv auf die Kontraktionen des überlebenden Uterus ein. Über die quantitativen Unterschiede orientiert die Tabelle.

5. Clavin zeigte wie in meinen Versuchen am lebenden Uterus auch auf das überlebende Organ keinen Einfluß.

Literaturverzeichnis.

1) C. J. Lorinser, Versuche und Beobachtungen über die Wirkungen des Mutterkorns. Berlin 1824.

2) Salerne, Memoire sur les maladies que cause le seigle ergote. Mem. de mathém. et de phys. prés. à l'acad. royale des sc. Paris 1755, vol. 2.

3) Read, Traité du seigle ergoté. Strasbourg 1771.

4) R. Kobert, Über die Bestandteile und Wirkungen des Mutterkorns. Archiv f. exp. Path. u. Pharm., vol. 18, 1884.

5) A. Grünfeld, Beiträge zur Kenntnis der Mutterkornwirkung. Arbeiten des pharmakologischen Instituts Dorpat, Bd. VIII, pag. 108; und: Zur Kenntnis der Sphacelinsäureeinwirkungen. Arbeiten des pharmakol. Instituts Dorpat, Bd. XII, pag. 295.

6) C. Jacoby, Das Sphacelotoxin, der spez. wirksame Bestandteil des Mutterkorns. Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 1897.

7) A. Jaquet, Über die pharmakodynamische Wirkung einiger Pflanzendialysate. Korrespondenzblatt f. Schweizer Ärzte 1897 und 1898.

8) C. C. Keller, Über die Wertbestimmung von Drogen und Präparaten und neuere Studien über die Bestandteile des Secale cornutum. Diss. inaug. Zürich 1897.

9) L. Fellner, Experimenteller Beitrag zur Wirkung der Hydrastis canadensis und des Ergotins auf den Uterus. Wien. med. Presse 1897.

10) Jolly, Die Einwirkung des Mutterkorns auf die Zirkulation. Diss. gekrönte Preisschrift Göttingen 1905.

11) E. Kehrer, Physiologische und pharmakologische Untersuchungen an den überlebenden und lebenden inneren Genitalien. Archiv f. Gynäk. Bd. 81, H. 1.

12) Briesemann, Mikroskopische Untersuchungen über die Wirkung des Digitalins, Veratrins und Ergotins auf die Zirkulation. Inaug. Diss. Rostock 1869.

13) H. Potel, Über die Wirkung der subkutanen Injektionen von extractum secalis cornuti aquosum bei Gefäßerkrankungen. Diss. Greifswald 1871.

14) Hemmeter, An experimental and clinical study of ergot. Med. news. Philad. 1891.

15) Huizinga, Jets over ergotine werking cit. bei Hermanides. Berl. klin. Wochenschr. 1880.

16) Holmes, Études expérimentales sur la mode d'action de l'ergot de seigle. Thèse Paris 1870.

17) Lazarsky, Über die Wirkung des Ergotins auf Blutzirkulation und Gebärmutter. Przeglad. lekarski 1885, Nr. 44 und 45 u. Ref. Centr. f. Gyn. 1886.

18) Hermanides, Hypodermatische Method von ergotine aanwendig 1874 Ned. Tijdschr. v. Geneesk. 2 u. Ref. in Virchow-Hirsch Jahresbücher 1874, Bd. I.

19) Haldimann, Beiträge zur Kenntnis der Wirkungen des Ergotins und des Ecbolins. Diss. Bern 1876.

20) Klebs, Über die Wirkung des Kohlenoxyds auf den tierischen Organismus. Virchows Archiv 1865.

21) P. Vogt, Über die Behandlnng der Varicen durch subkutane Ergotininjektionen. Berl. klin. Wochenschr. 1872.

22) Schüller, Über die Einwirkung einiger Arzneimittel auf die Gehirngefäße. Berl. klin. Wochenschr. 1874.

23) Labort et Peton, Action électiv de l'ergot sur les fibres lisses. Tribune médicale 1878. Vide: Savignac, Thèse Bordeaux 1898.

24) A. Wernich, Einige Versuchsreihen über das Mutterkorn. Beiträge zur Geb. u. Gyn. Herausgegeben von d. Gesellsch. f. Geburtsh. Berlin 1874.

25) Nicol and Mossop, On the action of certain neurotics on the cerebral circulation. Brit. and for. med. chir. review 1872.

26) A. Eulenburg, Subkutane Injektionen von Ergotinin (Tanret)-Ergotinium citricum solutum (Gehe). Deutsche med. Wochenschrift 1883, p. 637.

27) Zweifel, Über das Secale cornutum. Archiv für Path. u. Pharmak. 1875, vol. 4.

28) G. Ringer and Sainsbury, Note on some experiments with ergotine. Brit. med. journ. 1884.

29) Dixon, Lancet I, pag. 827, 1906.

30) Sollmann and Brown, The journal of the american medical association 1905, 22. July. Intravenous injection of ergot. Effects on the mammalian circulation.

31) Barger and Dale, Ergotoxin and some other constituents of ergot. Bio-chemical Journal. Vol. II, 1907, p. 240.

32) W. Diez, Versuche über die Wirkungen des Mutterkorns. Tübingen 1832.

33) Vahlen, Clavin, ein neuer Mutterkornbestandteil. Schmiedebergs Archiv f. exp. Path. u. Pharm., Bd. 55, 1906, pag 131.

34) E. Kehrer, Die Wirkung von Hydrastis- und Cotarninpräparaten auf Uterus und Blutdruck. Monatsschrift f. Geb. u. Gyn., Bd. 26, H. 5, 1907.

35) R. Magnus, Versuche am überlebenden Dünndarm von Säugetieren. I. Mitteilung Pflügers Archiv f. Physiol., Bd. 102, 1904.

36) E. Kehrer, Experimentelle Untersuchungen über die Mutterkornpräparate. Archiv für Gynäkologie, Bd 84, H. 3.

XXI.

Arbeiten aus dem Laboratorium für experimentelle Phai
zu Straßburg.

202. Untersuchungen über das Hämin.

Von

Dr. med. A. v. Siewert (Kiew).

Wenn man Wasserstoffsuperoxyd auf Hämatin einw
so entsteht neben anderen, von Küster beschriebenen
ein gelber Körper, der lebhaft an den gelben Far
Blutserums erinnert. Diese von Prof. Schmiedeberg
Beobachtung bildete den Ausgangspunkt meiner Unters
Als ich aber an die Ausführung ging, stellte sich heraus
Ausbeute an diesem gelben Körper eine sehr geringe is
große Mengen von Hämin oder Hämatin erforderlich sei
um den gelben Körper in ausreichender Menge im reinen
für die Analyse und andere Untersuchungen zu erhalten.

Die Darstellung des Hämins und die dabei
Erfahrungen führten schließlich dazu, daß ich mich trotz
auf die vorliegenden Untersuchungen verwendeten Zeit
schränken mußte, die Darstellung größerer Mengen v
möglichst zu vereinfachen und den Nachweis zu führen
nach verschiedenen Verfahren dargestellte Hämin k
schiedenheit in seinen Eigenschaften und in seiner Zusamn
aufweist.

1. Die Darstellung des salzsauren Hämir

Bei der Darstellung des Hämins aus dem Blute ve
meistens so, daß man das Hämatin durch schwefelsä
Alkohol abspaltet und aus der so gewonnenen sauren alk
Lösung das Hämin nach Zusatz von Salzsäure auskı
Dabei erhält man aber außer dem Hämin noch ein anderes
welches sich, im Gegensatze zum Hämin, in Alkali

löst. Nach der Annahme von Nencki und Zaleski[1]) handelt es sich dabei um ätherificierte Produkte des Hämins, die durch die Einwirkung der Säure zustande kommen.

Als ich das Hämin nach diesem Verfahren mittels Alkohol darstellte, welcher 1 Proz. Schwefelsäure enthielt, beobachtete ich, daß die Menge dieses sogenannten ätherifizierten Produktes nicht gering ist.

Dieser Umstand veranlaßte mich ein Verfahren auszuarbeiten, welches ein von ätherificierten Beimengungen freies Produkt liefert und eine fast erschöpfende Extraktion des Hämatins aus dem Blute ermöglichte.

Defibriniertes Pferdeblut wird stehen gelassen, bis die Blutkörperchen sich zu Boden gesenkt haben und dann das Serum abgehebert.

Die Blutkörperchen werden in ihrem 3—4fachen Volumen Wasser gelöst, die Lösung durch Musselin filtriert und nach Zusatz von etwas Essigsäure durch Kochen koaguliert. Das Blutkoagulum wird stark abgepreßt, fein zerrieben, an der Luft bis zu einem Wassergehalte von zirka 35 Proz. getrocknet und das Blutpulver nun in Portionen von 150—200 g in einer Reibschale mit 95prozentigem Alkohol zu einem dünnen Brei zerrieben. Dann werden 3—5 cm Kalilauge von 10—15 Proz. zugesetzt, so daß aus dem Brei sich eine dickflüssige Lösung bildet. Zu dieser Lösung wird nun tropfenweise unter beständigem Rühren konz. Schwefelsäure zugesetzt, wobei die Eiweißstoffe gefällt werden, während das Hämatin in Lösung bleibt, die dann sogleich in einem Saugfilter rasch abfiltriert wird. Der Rückstand wird mit Alkohol verrieben und der letztere abfiltriert. Nach diesem Verfahren läßt sich das Hämatin fast vollständig ausziehen, während es ohne die Behandlung mit Kali von dem durch den Alkohol fest geronnenen Eiweiß hartnäckig zurückgehalten wird. Bei der Kalibehandlung ist der Rückstand nur schwach grünlich gefärbt.

Auf diese Weise wird das stundenlange Ausziehen des Farbstoffes vollkommen vermieden. Ich konnte das Blutpulver von 6 l Blut in 2, höchstens 3 Stunden verarbeiten. Der Alkoholverbrauch ist 1—1,2 l auf ein Liter Blut.

Die einzelnen Portionen der so gewonnenen Hämatinlösung werden zusammengegossen und mit Kalilauge bis zur schwach sauren Reaktion versetzt, so daß das Hämatin sich eben noch in

---

1) Zeitschrift f. physiol. Chemie, Bd. 30, S. 384, 1900.

Lösung hält. Noch zweckmäßiger ist es die Lösung zu neutralisieren, so daß dabei das Hämatin gefällt wird, und dann verdünnte alkoholische (1 Vol. Proz.) Schwefelsäure zuzusetzen bis das Hämatin sich wieder löst; dabei wird ein Überschuß von Schwefelsäure sicherer vermieden. In der Lösung bildet sich ein Niederschlag von Kaliumsulfat. Man läßt absitzen, filtriert und bringt die vollkommen klare, dunkelgefärbte Lösung in abgemessenen Mengen in Kolben von cirka 2—2½ l. Die Lösung wird auf dem Wasserbade bis 70° C. möglichst schnell erhitzt. Zu je einem Liter Lösung werden nun 4—5 ccm gesättigter alkoholischer Salzsäure zugesetzt. Man läßt abkühlen. Nach 24—48 Stunden bildet sich am Boden ein reichlicher kristallinischer Niederschlag von Hämin. Die überstehende Flüssigkeit wird abgegossen. Die Kristalle werden auf ein Filter gebracht, mit Alkohol, Wasser, wieder mit Alkohol und dann mit Äther gewaschen und getrocknet.

Mikroskopisch besteht der Niederschlag aus gut ausgebildeten rhombischen und sechseckigen Kristallen. Fremde Beimengungen sind nicht wahrzunehmen.

Die Ausbeute ist verschieden, wahrscheinlich je nach dem Hämoglobingehalte des Blutpulvers. Im Mittel bekomme ich cirka 2 g pro Liter Blut.

Die so gewonnenen Kristalle sind sehr leicht löslich in verdünnten Alkalien, unlöslich ia Alkohol und Chloroform.

Außer diesem im allgemeinen einfachen Verfahren kann man noch in folgender Weise verfahren:

1. Die saure Hämatinlösung wird mit Kalilauge neutralisiert; dabei wird das Hämatin gefällt, nur ein geringer Teil bleibt in Lösung. Das Hämatin wird abfiltriert, mit Wasser, Alkohol und Äther gewaschen und in 95 Proz. Alkohol suspendiert. Nach dem Erhitzen auf dem Wasserbade bis zum Aufkochen wird alkoholische Salzsäure zugesetzt. Das Hämatin geht dabei in Lösung und scheidet sich beim Abkühlen als Hämin kristallinisch aus.

2. Die saure Hämatinlösung wird mit Kalilauge bis zur schwach alkalischen Reaktion versetzt. Die Lösung wird filtriert, auf dem Wasserbade bis nahe zum Kochen erhitzt. Zu je 100 ccm Lösung setzt man ⅔—¾ ccm alkoholischer Salzsäure zu.

Die von mir nach diesem Verfahren dargestellten Kristalle konnte ich sehr leicht und gut aus Alkohol oder Eisessig nach den bekannten Verfahren von Nencki, Schalfejew, Küster, Cloetta umkristallisieren.

Da kein Grund vorhanden war, anzunehmen, daß die von mir dargestellten Kristalle beim Umkristallisieren nach den erwähnten Verfahren in ihrer Zusammensetzung von der von Küster angegebenen Formel abweichen, so unterließ ich die Analyse dieser Kristalle, denn ich beabsichtigte viel mehr, ein Verfahren auszuarbeiten, das Hämin wieder aus Hämatin kristallinisch zurückzugewinnen, um dieses Produkt dann zur Analyse zu verwenden.

2. Das Umkristallisieren des salzsauren Hämins nach Lösen in Alkalien.

Wie bereits bekannt, erhält man durch Lösen in Alkalien und Fällen mit Säuren aus dem salzsauren Hämin das Hämatin. Die Analysen des Hämatins ergaben bis jetzt keine übereinstimmenden Werte, auch ist es noch niemandem gelungen, aus Hämatin das salzsaure Hämin wieder kristallinisch zurückzugewinnen.

Da für die Erkenntnis der Zusammensetzung des salzsauren Hämins die Analyse eines aus Hämatin umkristallisierten Präparates von großem Interesse erschien, so suchte ich dieses zu erreichen.

Meine Untersuchungen, die in dieser Richtung unternommen wurden, ergaben, daß man nach folgenden Verfahren das salzsaure Hämin nach Lösen in Alkalien umkristallisieren kann:

a) durch Behandlung mit Eisessig,
b) durch Behandlung mit Barythydrat.

a) Das Umkristallisieren vermittels Eisessig.

Wenn man salzsaures Hämin in verdünnten Alkalien löst und zu der Lösung etwas Kochsalz und cirka 1—1 1/2 Vol. Eisessig zusetzt, so wird aus der Lösung das Hämatin gefällt und nur ein verhältnismäßig geringer Teil wird von der Essigsäure gelöst. Erhitzt man diese Mischung mehr oder weniger allmählich bis zum Sieden, so sieht man, daß das amorphe Hämatin verschwindet und an dessen Stelle kristallinisches Hämin sich ausscheidet. Die Mutterlauge erscheint am Ende des Versuches kaum gefärbt. Die Kristalle erscheinen unter dem Mikroskop in Form von sehr gut ausgebildeten, großen rhombischen Tafeln.

Dieser Vorgang verläuft aber nicht immer ganz glatt. So kann es geschehen, daß nach Zusatz von Eisessig beim Erhitzen sogleich eine vollkommen klare Lösung entsteht, aus der man schwer ein gut kristallisiertes Präparat erhalten kann. Bei Versuchen mit größeren Portionen (über 1 g) bekommt man meistens ein Gemisch

von kristallinischem und amorphem Hämin. Wovon das abhängt, ließ sich bis jetzt nicht sicher erkennen.

In einer Anzahl von Versuchen bekam ich aus ein und demselben Hämin-Präparat nach Lösen in Natronlauge und Behandlung mit Eisessig ein sehr gut kristallisiertes Präparat, das ich zur Analyse verwerten konnte.

Dieses Präparat wurde folgenderweise erhalten:

Salzsaures Hämin wurde in Portionen bis zu 0,5 g in 1 prozentiger Natronlauge gelöst (0,5 g Hämin auf 30—40 ccm Natronlauge), die Lösung filtriert und zum vollkommen klaren Filtrate wurden 1—2 ccm gesättigte Kochsalzlösung und 1 1/2 Vol. Eisessig zugesetzt. Diese Mischung wurde 8—10 Min. lang im Sieden erhalten. In einer entnommenen Probe konnte man unter dem Mikroskope nichts Amorphes nachweisen. Die Mutterlauge blieb kaum gefärbt. Am Boden des Gefäßes sammelten sich die in Form von großen, sehr gut ausgebildeten rhombischen Tafeln ausgeschiedenen Kristalle an. Die Mutterlauge wurde abgegossen, die Kristalle mehrmals mit Wasser gewaschen und das Wasser jedesmal mit den kleineren schwimmenden Kriställchen abgegossen. Die Kristalle wurden dann auf einem gehärteten Filter gesammelt, mit Wasser gewaschen und im Vacuum über Schwefelsäure bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

Auf diese Weise erhielt ich 3,3 g umkristallisierten Hämins, das ich zur Analyse verwandte (Präparat I). Makroskopisch hatte dieses Präparat das Aussehen eines einheitlichen schwarz-violetten, glizernden Pulvers.

b. Das Umkristallisieren nach Behandlung mit Barythydrat.

Viel sicherer und einfacher als das eben beschriebene Verfahren mit Eisessig erwies sich folgendes Verfahren. Salzsaures Hämin wird in beliebigen Portionen in einer geringen Menge Natronlauge gelöst und durch Zusatz von überschüssigem Barythydrat gefällt. Man filtriert und wäscht den Rückstand auf dem Filter mit Wasser bis zur neutralen Reaktion und bis zum Verschwinden der Chlorreaktion aus.

Jetzt wird der Rückstand vom Filter mit 95 prozentigem Alkohol in ein Becherglas gespült. Man setzt nun noch so viel 95 prozentigen, 1/4 Vol. Proz. koncentrierte Schwefelsäure enthaltenden Alkohol zu, bis sich das Hämatin löst. Man erhält dadurch eine sehr konzentrierte Lösung. Die Lösung wird durch dasselbe Filter

ltriert. Auf dem Filter bleibt das Baryumsulfat. Das vollkommen :lare, dunkel gefärbte Filtrat wird auf dem Wasserbade auf 70 bis 2° C. erhitzt. Jetzt setzt man alkoholische Salzsäure zu, bis die ,ösung eben einen bräunlichen Ton annimmt (den Farbenumschlag nerkt man bei Tageslicht). Nach ein paar Stunden haben sich die Kristalle ausgeschieden. Am Boden des Gefäßes bildet sich ein chwarz-violetter kristallinischer Niederschlag, der unter dem Iikroskope aus sehr kleinen, einheitlichen Kriställchen besteht.

Nach 24—48 Stunden wird die überstehende Flüssigkeit ab;egossen. Die Kristalle werden auf ein gehärtetes Filter gebracht ınd rasch durch Absaugen abfiltriert, dann mit 95prozentigem und tufenweise verdünntem Alkohol und etwas Salzsäure enthaltendem Vasser gewaschen und im Vacuum über Schwefelsäure und Kaliumydroxyd getrocknet. Makroskopisch haben die Kristalle das Ausehen eines einheitlichen schwarz-violetten Pulvers. Die Ausbeute st cirka 70 Proz. Die so gewonnenen Kristalle wurden ebenfalls ur Analyse verwendet (Präparat II).

3. Über das in Alkalien unlösliche Hämin.

Wie schon erwähnt, habe ich anfangs das Hämin nach Iörners Angaben dargestellt und dabei gefunden, daß ein gewisser nd zwar nicht geringer Teil des erhaltenen Produktes sich in verünnten Alkalien nicht löst. Dieser in Alkalien unlösliche Teil vurde von mir möglichst rein darzustellen versucht und analysiert.)as in der schon beschriebenen Weise bereitete Blutpulver wurde ı Portionen von 150—200 g mit 95prozentigem Alkohol, der Vol. Proz. konzentrierte Schwefelsäure enthielt, verrieben und bei immertemperatur einige Stunden stehen gelassen. Die dunkelefärbte Hämatinlösung wurde abfiltriert und auf dem Wasserbade is 70—72° C. erhitzt. Zu je 100 ccm Lösung wurde nun 1 ccm lkoholischer Salzsäure zugesetzt. Sie wurde zum Abkühlen bei iederer Temperatur ins Freie gestellt und nach 24 Stunden von en Kristallen abgehebert, die dann auf ein Filter gebracht und ıit Alkohol, Wasser, zuletzt wieder mit Alkohol und Äther gevaschen und bei 80° getrocknet wurden.

Die so gewonnenen Kristalle bestanden aus rhombischen 'afeln und Nadeln. Sie wurden nun in verdünnte Natronlauge geracht, worin sich nur ein Teil löste. Die Lösung wurde abfiltriert nd die ungelöst gebliebenen Kristalle auf dem Filter erst mit verünnter Natronlauge, bis dieselbe farblos abfloß, dann mit Wasser is zur neutralen Reaktion gewaschen. Die gewonnenen Kristalle

bestanden, unter dem Mikroskop betrachtet aus großen rhombischen Nadeln, die sich leicht in Chloroform lösten. Die Chloroformlösung wurde mit zwei Volumen Alkohol (80 Proz.) vermischt und nach Zusatz von sehr wenig alkoholischer Salzsäure das Chloroform auf dem Wasserbade abdestilliert. Aus der zurückgebliebenen alkoholischen Lösung kristallisierte das Hämin beim Abkühlen in Form von großen regelmäßigen rhombischen Nadeln aus.

Diese Nadeln wurden abfiltriert, mit stufenweise verdünntem Alkohol und Wasser gewaschen; dann wieder in Chloroform gelöst und ebenso zum zweiten Male umkristallisiert.

Nach dem Waschen mit Alkohol, der allmählich immer mehr verdünnt wurde, und zuletzt mit Wasser wurden die Kristalle im Vacuum über Schwefelsäure getrocknet.

Beim Umkristallisieren muß man sehr vorsichtig mit dem Zusatz von Salzsäure sein, weil man sonst einen undeutlich-kristallinischen Niederschlag bekommt, während die Hauptmasse in Lösung bleibt. Dieses durch zweimaliges Umkristallisieren gewonnene Hämin ist bei Zimmertemperatur unlöslich in verdünnter Kali- oder Natronlauge, sehr langsam löslich beim Erhitzen.

Die Analysen dieses Präparates ergaben folgende Werte:

1. 0,2455 g gaben 0,5813 CO_2 und 0,1251 H_2O
   = 64,58 Proz. C, 5,70 Proz. H.
2. 0,1493 g gaben 0,3526 CO_2 und 0,0785 H_2O
   = 64,41 Proz. C, 5,88 Proz. H.
3. 0,1613 g gaben bei 749 Bst und 23° C.
   12 ccm N = 8,46 Proz. N.
4. 0,1879 g gaben 0,0235 Fe_2O_3 = 8,75 Proz. Fe
5. 0,3145 g gaben 0,040 Fe_2O_3 = 8,89 Proz. Fe
6. 0,2413 g } (Carius) 0,0307 Fe_2O_3 = 8,89 Proz. Fe
   0,0201 Ag und 0,0203 Ag Cl
   = 4,82 Proz. Cl.

			Mittel
C	64,58	64,41	64,50
H	5,70	5,88	5,79
N	8,46	—	8,46
Fe	8,75	8,89	8,82
Cl	4,82	—	4,82

Dieses Hämin erhält nach diesen Zahlen auf 1 Atom Eisen 34 Atome C. Sie geben, genau berechnet, für dieses Präparat die Zusammensetzung:



$$C_{34}H_{34}N_{3\,^8/_{10}}FeO_3\,.\,^9/_{10}\,HCl.$$

	berechnet	gefunden
C	64,69	64,50
H	5,73	5,79
N	8,45	8,46
Fe	8,87	8,82
Cl	4,62	4,82

Nach dieser Zusammensetzung läßt sich ein sicherer Schluß auf die Natur dieses Körpers nicht ziehen, da ich nur ein Präparat analysieren konnte. Doch scheint es sich um ein Anhydrit des Hämins zu handeln. Die Abweichungen der Zahlenwerte für den H., N und das Cl sind nicht bedeutend und hängen wohl von Beimengungen ab. Vielleicht handelt es sich auch um einen Austritt von ein wenig N und Cl in Form von Chlorammonium. Für die Anhydridnatur spricht auch der Umstand, daß die Substanz sich beim Erhitzen in Alkalien löst, also in die hydratische Form übergeht.

4. Über die Schicksale des subcutan injicierten Hämins.

Morishima[1]) hat nachgewiesen, daß aus dem in das Blut eingespritzten Hämin das Eisen in der Leber abgespalten und in Ferratin übergeführt wird. Morishima injicierte in einem Versuche einem Hunde das Hämin auch subcutan. Doch entstanden an der Jnjectionsstelle Abscesse, so daß es zweifelhaft blieb, ob das Hämin von dem Unterhautzellgewebe aus resorbiert wird. Ich injicierte einem Kaninchen 0,5 g in etwas Natriumcarbonatlösung verteiltes Hämin an verschiedenen Stellen in der Bauchgegend. Es trat keine Absceßbildung ein und nach einem Monat fanden sich an den Injektionstellen Knötchen, die entfernt und näher untersucht wurden. Sie bildeten eine schwarze Masse, welche als beginnende Einkapselung von lockerem Bindegewebe umgeben und von einzelnen Bindegewebssträngen durchwuchert war. Die schwarze Masse löste sich leicht in heißem Alkohol, enthielt Eisen und bestand demnach aus unverändertem Hämin oder Hämatin, so daß also eine Resorption desselben im Laufe eines Monats nicht stattgefunden hatte, sondern sich an der Injectionsstelle in Vorbereitung für eine dauernde Ablagerung fand. Es hatte namentlich auch keine Pigmentbildung stattgefunden.

5. Analysen.

Über die Ausführung der Analysen sei nur folgendes bemerkt:

Die Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl läßt bekanntlich beim Hämatin im Stich. Es wird zwar angegeben, daß man

1) Arch. f. exp. Path. u. Pharmakol., Bd. 41, 291, 1898.

unter gewissen Bedingungen auch nach Kjeldahl richtige Werte erhalten kann, aber dennoch erscheint diese Methode unsicher. So bekam ich bei 25 stündigem ununterbrochenen Erhitzen von je 0,1 g. Hämin mit 10 ccm Schwefelsäure und Phosphorsäureanhydrid unter Zusatz von Kupferoxyd statt 8,6 Proz. nur 6,95 Proz. Stickstoff, unter Zusatz von Quecksilber statt des Kupferoxyds nur 7,9 Proz. N.

Sichere Werte bekommt man nur bei der Verbrennung nach Dumas im offenen Rohr, wenn die Substanz innig mit CuO gemischt und die Verbrennung langsam ausgeführt wird.

Bei der Eisenbestimmung vermittels Verbrennung des Hämins mit Oxydationsgemisch muß man allmählich und längere Zeit mäßig erhitzen. In dieser Weise verhütet man die Bildung von schwer verbrennlicher Kohle, welche den Eisenwert erhöhen kann.

Als ein sicheres und sehr bequemes Verfahren, wobei man auch mit kleineren Mengen Hämin auskommt, hat sich folgendes Verfahren erwiesen.

Das Hämin wird im Platintiegel abgewogen und in Ammoniak gelöst. Nach dem Trocknen erst bei 90° und schließlich bei 120° wird das Hämin im zugedeckten Tiegel vorsichtig, ganz allmählich bis zur Rotglut erhitzt, wobei alle Kohle leicht verglimmt. Das rückständige Eisenoxyd wird dann gewogen. Wenn man das Hämin vorher nicht gut austrocknet und zu rasch erhitzt, so werden mit den Dämpfen und flüchtigen Produkten leicht Eisenteilchen mit fortgerissen.

Die Chlorbestimmungen werden in folgender Weise ausgeführt.

Das Hämin wird mit etwas Alkohol angefeuchtet und mit gesättigter, chlorfreien Barythydratlösung erhitzt. Aus dem kristallinischem Hämin bilden sich dabei Flocken der in Wasser unlöslichen Baryumverbindung, während das Chlor als Chlorbaryum in Lösung geht. Aus dem wasserhellen Filtrat wird, nach sorgfältigem Auswaschen des Filters, der überschüssige Baryt durch Kohlensäure entfernt und das Chlor aus dem Filtrat nach dem Ansäuern mit Salpetersäure durch Silbernitrat gefällt und in der üblichen Weise verfahren. Die Baryumverbindung ist nach dem Auswaschen mit heißem Wasser völlig chlorfrei. Man kann es zur Stickstoffbestimmung nach Dumas verwenden.

Die Kohlen- und Wasserstoffbestimmungen werden im offenen Rohre mit Kupferoxyd und vorgelegten reducierter

upferspirale und Silberspirale vorgenommen. Das Hämin wurde
i Schiffchen mit Bleichromat gemischt und ganz allmählich
erbrannt.

Präparat I — erhalten durch Lösen des Hämins in Natronlauge und Umkristallisieren mittels Eisessig.

1. 0,1525 g Hämin ergaben 0,3516 CO_2 und 0,0732 H_2O, entsprechend 62,88 C, 5,36 Proz. H.
2. 0,2019 g Hämin — 0,4632 CO_2 und 0,0959 H_2O = 62,57 Proz. C, 5,31 Proz. H.
3. 0,2528 g Hämin ergaben bei 741 Bst. und 16° C — 19 ccm N = 8,65 Proz. N.
4. 0,2299 g Hämin — bei 746 Bst. und 18° C 17,2 ccm N = 8,61 Proz. N.
5. 0,3202 g Hämin ergaben 0,0398 Fe_2O_3 = 8,68 Proz. Fe
6. 0,1836 g " " 0,0226 Fe_2O_3 = 8,61 Proz. Fe
7. 0,2189 g " " 0,0122 Ag u. 0,0321 AgCl = 5,45 Pr. Cl
8. 0,1429 g " " 0,0092 Ag u. 0,0183 AgCl = 5,27 Pr. Cl.

Dieser Zusammensetzung entspricht die Formel:

$$C_{34}H_{32}N_4O_4Fe . HCl$$

berechnet	gefunden 1.	gefunden 2.	Mittel
C — 62,53	62,88	62,57	62,72
H — 5,06	5,36	5,31	5,33
N — 8,59	8,65	8,61	8,63
Fe — 8,59	8,68	8,61	8,64
Cl — 5,44	5,45	5,27	5,36

Präparat II — erhalten durch Lösen des Hämins in Natronlauge, Fällen mit Barythydrat. Aus Alkohol umkristallisiert.

1. 0,1463 g Hämin gaben 0,3345 CO_2 0,0655 H_2O = 62,36 Proz. C, 5,01 Proz. H
2. 0,1292 g Hämin gaben bei 738 Bst. und 14° C 9,6 ccm N = 8,58 Proz. N
3. 0,1208 g Hämin gaben 0,0150 Fe_2O_3 = 8,68 Proz. Fe
4. 0,2095 g Hämin gaben 0,0203 AgCl und 0,0169 Ag = 5,05 Proz. Cl.

Die Zusammensetzung dieses Präparates entspricht ebenfalls er Formel:

$$C_{34}H_{32}N_4O_4Fe . HCl$$

berechnet	gefunden
C — 62,53	62,36
H — 5,06	5,01
N — 8,59	8,58
Fe — 8,59	8,68
Cl — 5,44	5,05.

Es ergibt sich also, daß beide Präparate, von denen das eine aus Essigsäure, das andere aus Alkohol umkristallisiert wurden, die gleiche Zusammensetzung haben, die vollkommen mit der von Küster[1]) gefundenen übereinstimmt.

Küster hat seine Präparate 1. aus Eisessig dargestellt und aus Eisessig umkristallisiert, 2. aus Alkohol dargestellt und aus Eisessig umkristallisiert. Wir haben jetzt Präparate, die nach folgenden Darstellungs- und Behandlungsweisen erhalten sind:

1. Darstellung mittels Alkohol allein und außerdem Lösen der Kristalle in Natronlauge vor dem Umkristallisieren
2. Darstellung mittels Alkohol und Umkristallisieren mittels Eisessig, sowie Lösen in Natronlauge vor dem Umkristallisieren
3. Darstellung mittels Alkohol und Umkristallisieren mittels Eisessig ohne vorheriges Lösen in Natronlauge (Küster)
4. Darstellung und Umkristallisieren mittels Eisessig ohne vorheriges Lösen in Natronlauge (Küster).

Wenn also alle diese Präparate die gleiche Zusammensetzung haben, so darf man mit Küster annehmen, daß es sich um das eigentliche Hämin handelt und nicht um äthylierte und acetylierte Derivate desselben.

1) Zeitschrift f. physiol. Chemie, Bd. 40, S. 391.

XXII.

Aus der medizinischen Klinik zu Greifswald. (Direktor Prof. Dr. O. Minkowski).

Über die Grenzen der Hippursäurebildung beim Menschen.
Zugleich ein Beitrag zur Glycocollfrage.

Von

Dr. Johann Lewinski, Assistenzarzt.

Die Synthese der Hippursäure im tierischen Organismus hat die Forschung nach zwei Richtungen beschäftigt. Zunächst war es die Frage nach dem Sitze der Glycocoll-Benzoesäurepaarung, die nach der bedeutsamen Entdeckung von Keller und Wöhler das Interesse erregte. Nachdem im Anschluß an die Untersuchungen von Schmiedeberg und Bunge[1]) das Studium dieser Verhältnisse zu einem gewissen Abschluß gediehen war, hat man neuerdings den Gegenstand im Hinblick auf die Eiweißchemie wieder ins Auge gefaßt. Denn es bietet sich hier die Möglichkeit durch planmäßige Benzoesäure-Darreichung über die dem Organismus zur Verfügung stehenden Glycocollmengen Aufschlüsse zu erhalten und damit einen Einblick in die Beziehungen der Aminosäuren im intermediären Stoffwechsel zu gewinnen.

Die Aminosäuren sind bekanntlich die Bausteine des Eiweiß. in die es bei der hydrolytischen Spaltung zerfällt. Daß auch der natürliche Eiweißzerfall diesen Weg kennt, ist durch das Vorkommen von Aminosäuren in normalem und krankhaften Zuständen sichergestellt.

Ist somit eine gewisse Übereinstimmung der künstlichen und natürlichen Vorgänge erwiesen, so bleibt weiter zu untersuchen, wie weit diese Übereinstimmung geht. Wäre sie eine vollkommene, so müßte man verlangen, daß die einzelnen Eiweißabkömmlinge bei der Säurehydrolyse in genau denselben Mengenverhältnissen entstehen wie beim Abbau in corpore.

1) Archiv f. exp. Path. u. Pharm., Bd. VI.

Die chemische Analyse belehrt uns nun, daß der Glycocollgehalt des Eiweiß, mit Ausnahme des glycocollreichen Leims, 4 Proz. nicht übersteigt, d. h. es treffen unter Zugrundelegung des N-Gehalts des Eiweiß = 16 Proz. und des N-Gehalts des Glycocolls = 18,7 Proz. auf 100 Eiweiß-N weniger als 5 Glycocoll-N. Es fragt sich nun zunächst, in welchem Verhältnis zu der Menge der im Körper zersetzten Eiweißsubstanzen die Glycocollmengen stehen, die durch Zuführung von größeren Quantitäten von Benzoesäure dem Organismus in Form von Hippursäure entzogen werden können.

Diese Frage ist schon mehrfach aufgegriffen und verschieden beantwortet worden. Zuerst beschäftigten sich Parker und Lusk[1]) mit ihr; sie fanden, daß in dem im Harn ausgeschiedenen Gesamt-N in der Form von Hippursäure nicht mehr als 4 Proz. auftreten könne. Während Brugsch und Hirsch[2]) durch Versuche am Hunde zu dem gleichen Resultate gelangten, stellen Wiechowski[3]) und Magnus-Levy[4]) fest, daß man dem Pflanzenfresser (Hammel, Kaninchen) Glycocollmengen entziehen kann, die das Vielfache der im Eiweiß präformierten Amidosäure darstellen. Wiechowski fand bis zu 21 Proz., Magnus-Levy bis zu 28 Proz. des in 24 Stunden ausgeschiedenen Harnstickstoffs in dem Glycocoll der neugebildeten Hippursäure.

Brugsch[5]) hat nun neuerdings diese Verhältnisse beim Menschen untersucht und fand in Übereinstimmung mit den aus der Literatur verwertbaren Angaben, daß hier die Relation Glycocoll-N : Gesamt-N nicht über 3 Proz. hinausgeht.

Es ist auffallend, wie gering diese von Brugsch gewonnenen maximalen Hippursäuremengen sind. Er erhielt nach Darreichung von 15 g benzoesaurem Natrium 3,96 g Hippursäure und nach Darreichung von 20 g benzoesaurem Natrium 4,92 g Hippursäure. Diese Quantitäten bleiben weit hinter Werten zurück, die nach einer Mitteilung von Herrn Prof. Minkowski schon in den 80er Jahren in nicht veröffentlichten Untersuchungen von ihm dargestellt wurden; die Ausbeute betrug damals bis zu 25 g. Auch Weintraud[6]) scheint ähnliche Mengen erhalten zu haben.

---

1) Amer. Journ. of Physiol. 3, 472.
2) Zeitschr. f. exp. Path. u. Ther., Bd. III.
3) Hoffm. Beitr., Bd. VII.
4) Münch. Med. Wft. 1905, Biochem. Zft. 1907.
5) Zentralbl. d. Stoffw. 1907.
6) Kongr. f. innere Med. 1900.

Es wurden daher zur Nachprüfung dieser Verhältnisse die folgenden Versuche angestellt:

Zur Methode ist zu bemerken: der frisch entleerte Harn wurde in einer Vorlage gesammelt, in der sich 30 ccm Acid. carbol. liqu. befanden. Eventuell vorhandenes Eiweiß wurde vor der weiteren Verarbeitung mit Zinksulfat ausgefällt.

Die Hippursäurebestimmung geschah nach der von Schmiedeberg u. Bunge[1]) angegebenen Methode, von deren ursprünglicher Fassung ich nur insofern abwich, als ich zum Ansäuern des Alkoholextraktes Phosphorsäure statt Salzsäure verwandte.

Es ist wichtig, bei Anwendung der Methode auf gewisse Momente noch besonders zu achten, diese sind: 1. die letzte Portion des zum Ausschütteln des Alkoholextraktes verwandten Essigäthers getrennt verdampfen zu lassen, um sich zu überzeugen, ob der letzte Rest der Hippursäure aufgenommen war. 2. Das Abdunsten des Essigäthers in genügend großen Glasschalen vor sich gehen zu lassen, an deren Wandung zu erkennen ist, daß nichts von der Substanz über den Rand gestiegen ist. 3. Das Umkrystallisieren des Essigätherrückstandes mit kleinsten Flüssigkeitsmengen zu besorgen. 4. Die gereinigte Substanz auf dem Boden eines engen Becherglases auskrystallisieren zu lassen. 5. In der abgehobenen, auf 3—4 ccm eingeengten Mutterlauge den Ausfall von Restkrystallen abzuwarten.

Daß die vielfach angezweifelte Methode unter Beobachtung aller Cautelen gute Resultate gibt, zeigt der folgende Vorversuch: In 100 ccm Urin werden gefunden: 0,0062 g Hippursäure. Zu einer gleichen Portion desselben Urins werden 0,1644 g Hippursäure zugesetzt; darin wiedergefunden: 0,1672. Also nur 2 Proz. Verlust.

Bei den großen Mengen von Hippursäure, die in den nachfolgenden Versuchen gefunden wurden, erwies sich die Schmiedeberg-Bungesche Methode ganz besonders brauchbar, da bei den geringen Harnquantitäten, die zur Analyse nur nötig waren, wesentliche Verunreinigungen nicht in Frage kamen. Zudem war es für die hier aufgeworfenen Fragen zweifellos von Vorteil, daß bei dieser Methode die Hippursäure in Substanz zur Darstellung gelangte, so daß eine Identifizierung der gewonnenen Substanz und eine Kontrolle ihrer Reinheit jederzeit leicht möglich war. In der Regel schied sich aus dem Essigätherrückstand die Hippursäure in fast farblosen Kristallen aus, die sich auch beim Umkristallisieren als fast rein erwiesen.

Versuch I.

N. 18 Jahre alt, Ischias. Innere Organe gesund. Körpergewicht 59 kg. Erhält 12 g Acid. benzoic. als Na-Salz innerhalb von 12 Stunden auf stündliche Dosen verteilt. Dazu gemischte Kost. Keinerlei Nebenerscheinungen.

1) Dieses Archiv, Bd. VI, 1877.

In 24 Stunden vom Beginn des Versuches an, wurden gesammelt: 1300 ccm Harn vom spez. Gew. 1027, sauer reagierend.

darin enthalten:

17,29 g Gesamt-Stickstoff

18,23 g Hippursäure {entsprechend: 12,48 g Benzoesäuse / 1,43 g Glycocoll-N

keine ungepaarte Benzoesäure, keine reduzierenden Substanzen.

$$\frac{\text{Glycocoll N}}{\text{Gesamt N}} = \mathbf{8{,}27} \text{ Proz.}$$

Versuch. II

K. 35 Jahre alt. Neurasthenie. Innere Organe gesund. Körpergewicht 67 kg. Erhält 20 g Acid. benzoic. als Na-Salz innerhalb von 12 Stunden auf stündliche Dosen verteilt. Dazu gemischte Kost. Keinerlei Nebenerscheinungen.

In 24 Stunden von Beginn des Versuches an, wurden gesammelt: 1850 ccm Harm vom spez. Gew. 1020, sauer reagierend.

Darin enthalten:

12,95 g Gesamt-Stickstoff
29,09 g Hippursäure {entsprechend: 19,92 Benzoesäure / 2,27 Glycocoll-N

keine ungepaarte Benzoesäure, keine reduzierenden Substanzen.

$$\frac{\text{Glycocoll N}}{\text{Gesamt N}} = \mathbf{17{,}52} \text{ Proz.}$$

Es zeigt sich demnach in meinen Versuchen, daß die Fähigkeit des menschlichen Organismus Hippursäure zu bilden erheblich weiter geht, als es nach den Resultaten von Brugsch scheinen konnte.

Es erschien nun von großem Interesse die Grenzen dieser Fähigkeit festzustellen. Von vornherein waren zwei Möglichkeiten in Betracht zu ziehen: es konnte der Umfang der Synthese begrenzt sein durch die Menge des dem Organismus zur Verfügung stehenden Glycocolls oder aber durch die Leistungsfähigkeit der Organe, welche den synthetischen Prozeß zu vermitteln haben.

Um die erstere Möglichkeit zu prüfen, wurden zunächst einige Versuche mit eiweißarmer Diät und Zufuhr von noch größeren Mengen Benzoesäure angestellt.

Versuch III.

Dasselbe Individuum wie im Versuch II. Erhält 25 g Acid. benzoic. als Na-Salz innerhalb von 12 Stunden auf stündliche Dosen verteilt. Dazu gemischte Kost. Keinerlei Nebenerscheinungen.

In 24 Stunden, von Beginn des Versuches an, wurden gesammelt: 1200 ccm Harn vom spez. Gew. 1027, sauer reagierend.

darin enthalten:

9,31 g Gesamtstickstoff } entsprechend: 23,97 g Benzoesäure
34,99 g Hippursäure } 2,74 g Glycocoll N
1,65 g ungepaarte Benzoesäure
ıraus berechnet die Menge der ausgeschiedenen Gesamt-Benzoeiure: 25,62 g.

$$\frac{\text{Glycocoll-N}}{\text{Gesamt-N}} = \mathbf{29{,}4}\ \text{Proz.}$$

$$\frac{\text{ungepaarte Benzoesäure}}{\text{Gesamt-Benzoesäure}} = \mathbf{6{,}5}\ \text{Proz.}$$

Versuch IV.

Dasselbe Individuum. Erhält 40 g Acid. benzoic. als Na-Salz nerhalb von 8 Stunden auf $^1/_2$ stündliche Dosen verteilt. Dann wird, sich Übelkeit und Kopfschmerzen einstellen, die Zufuhr abgebrochen. ızu eiweißarme Kost.

Der Urin wird in 2 Portionen untersucht. Die erste Portion umßt den von Beginn des Versuches bis zur Unterbrechung der Benzoeure-Zufuhr ausgeschiedenen Urin, die zweite Portion den Rest der Stunden-Menge.

1. Portion:
2200 ccm Harn vom spez. Gew. 1011, sauer reagierend.
Darin enthalten:
3,36 g Gesamtstickstoff
10,85 Hippursäure } entsprechend: 7,43 g Benzoesäure; 0,85 g Glycocoll-N
3,11 ungepaarte Benzoesäure.
raus berechnet die Menge der ausgeschiedenen Gesamt-Benzoeure: 10,54 g.

$$\frac{\text{Glycocoll-N}}{\text{Gesamt-N}} = \mathbf{25{,}3}\ \text{Proz.}$$

$$\frac{\text{ungeparte Benzoesäure}}{\text{Gesamt-Benzoesäure}} = \mathbf{29{,}5}\ \text{Proz.}$$

ine reduzierenden Substanzen.

2. Portion:
1600 ccm Harn vom spez. Gewicht 1024, sauer reagierend.
darin enthalten:
5,69 g Gesamt-Stickstoff
29,46 g Hippursäure } entsprechend: 20,18 g Benzoesäure; 2,30 g Glycocoll-N
6,59 g ungepaarte Benzoesäure
raus berechnet die Menge der ausgeschiedenen Gesamt-Benzoeure: 26,77 g

$$\frac{\text{Glycocoll-N}}{\text{Gesamt-N}} = \mathbf{40{,}5}\ \text{Proz.}$$

$$\frac{\text{ungepaarte Benzoesäure}}{\text{Gesamt-Benzoesäure}} = \mathbf{24{,}6}\ \text{Proz.}$$

ırkes Reduktions-Vermögen.

Daraus berechnet ergibt die Gesamt-Tagesmenge (1. + 2. Portion).

9,05 g Gesamtstickstoff

40,31 g **Hippursäure** {entsprechend: 27,61 Benzoesäure; 3,15 Glycocoll-N

9,69 g ungepaarte Benzoesäure

37,3 g Gesamt-Benzoesäure

$$\frac{\text{Glycocoll-N}}{\text{Gesamt-N}} = \mathbf{34{,}9}\ \text{Proz.}$$

$$\frac{\text{ungepaarte Benzoesäure}}{\text{Gesamt-Benzoesäure}} = 26\ \text{Proz.}$$

Die Gesamt-Tagesmenge zeigt starkes Reduktions-Vermögen und am Polarisations-Saccharometer eine R.-Drehung = 0,25 Proz.

Die Versuche zeigen, daß man dem menschlichen Organismus Glycocollmengen entziehen kann, deren Beziehung zum Gesamt-N den von Brugsch normierten Grenzwert von 3 Proz. weit hinter sich läßt. Die Relation $\frac{\text{Glycocoll-N}}{\text{Gesamt-N}}$ = **34,9 Proz.** in Versuch IV stellt das höchste bisher beobachtete Glycocollprozent dar und beweist, daß die Ausscheidungsverhältnisse des Menschen in dieser Richtung ähnliche sind wie sie von Magnus-Levy und Wiechowski für die Pflanzenfresser festgestellt wurden.

Allerdings erreichte die Benzoesäuregabe, die im Versuch IV zugeführt wurde, schon die Grenze der Giftwirkung. Man könnte daher die in diesem Versuche gewonnenen 40 g Hippursäure für einen Maximalwert halten. Wie aber unten gezeigt werden wird, lassen sich bei anderer Versuchsanordnung noch größere Hippursäuremengen ohne die geringsten Intoxikationserscheinungen zur Ausscheidung bringen.

Es geht jedenfalls aus meinem Versuche hervor, daß der Mensch relativ hohe Benzosäuregaben ausschließlich in gepaartem Zustande auszuscheiden vermag. Wiechowski bezeichnet es in seiner zusammenfassenden Arbeit [1]) als die Regel, daß sich die Säure teilweise ungepaart im Urin wiederfindet. Wenn demgegenüber meine Versuchspersonen bei Dosen von 12 g resp. 20 g Acid. benz. keine Spur von freier Säure im Tagesharn ausscheiden, so möchte ich das zwei Umständen zuschreiben: einmal wurde die Benzoesäure in fraktionierten Dosen über den halben Tag verteilt gereicht und damit eine Überschwemmung des Organismus mit Benzoesäure vermieden, sodann wurde peinlichst jede Zersetzung der Hippursäure in dem gesammelten Urin verhindert.

1) Hofmeisters Beiträge. Bd. VII, S. 231, 1906.

Beide Punkte haben in der Literatur schon mehrfach Berücksichtigung erfahren. Die Zunahme des Synthesenumfanges bei fraktionierter Darreichung der Benzoesäure wurde für das Kaninchen durch die Versuche von Parker und Lusk,[1]) sowie durch R. Cohn[2]) erwiesen. Auf die Bedeutung der Zersetzung der Hippursäure im entleerten Urin haben zuerst v. d. Velde und Stokvis[3]) aufmerksam gemacht. Wie sie zeigten, ist diese Möglichkeit bei alkalischer Reaktion oder reichlichem Eiweißgehalt des Urins besonders zu befürchten.

Als Ursache für diese Hippursäurespaltung kommen zwei Momente in Betracht: entweder das in den Geweben verbreitete Hippursäure spaltende Ferment (Schmiedeberg[4]), Minkowski[5])) geht durch die Nieren und entfaltet seine abbauende Wirksamkeit auch im Urin, oder im Harn vorhandene Bakterien rufen die Zersetzung hervor. Ich bin geneigt die zweite Ursache in den Vordergrund zu stellen, denn bei Gegenwart eines Fermentes im Urin müßte schon während seines mehrstündigen Verweilens in der Blase Benzoesäure frei werden, und die Mischung mit dem antifermentativen Agens im Glas käme zu spät. Dagegen spricht aber die Abwesenheit jeder Spur freier Benzoesäure in Versuch I und II. Jedenfalls wird man am sichersten gehen, den Urin in einer Vorlage aufzufangen, die nicht nur die Bakterienentwicklung sondern auch die Enzymwirkung hemmt, wie es die konzentrierte Karbolsäure tut.

Bezüglich des Umfanges der Hippursäurebildung ist ferner zu berücksichtigen, daß die im Harn wiedergefundene Benzoesäure, einschließlich des in der Hippursäure enthaltenen Anteils, häufig hinter der eingeführten Dosis zurückbleibt. Diese Verluste können recht erheblich sein und betragen in den Versuchen von Jaarsveld und Stokvis[6]) an gesunden und nierenkranken Menschen durchschnittlich 50 bis 60 Proz. der Zufuhr. Bei der Darmwirkung der Benzoesäure ist anzunehmen, daß mehrfach mangelhafte Resorption im Spiele war, und in der Tat gelang es Wiechowski in diarrhöischen Darmentleerungen von Kaninchen Benzoesäure nachzuweisen und durch Schmelzpunktbestimmung sicher zu stellen. Aber auch bei den

1) Americ. Journ. of Physiol., Vol. III, 1900.
2) Festschrift f. Jaffe, S. 321. Braunschweig 1901.
3) Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd XVII, S. 189, 1883.
4) Arch. f. exp. Path. u. Ther., Bd. XIV, S. 371, 1881.
5) Arch. f. exp. Path. u. Ther., Bd. XVII, S. 445, 1883.
6) Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. X, S. 208, 1879.

Kaninchenversuchen Wiechowskis, wo diese Form des Verlustes nicht in Frage kam, macht sich ein solches „Defizit“ stets bemerkbar und schwankt bei gleicher Benzoesäuregabe zwischen 3,2 und 45,9 Proz. Dabei ergab sich, daß die Menge der vermißten Benzoesäure in einem bestimmten Abhängigkeitsverhältnis von dem Umfange der Hippursäuresynthese steht.

Der Verbleib des vermißten Anteils der Benzoesäure hat durch Forschungen der jüngsten Zeit eine Aufklärung erfahren. Salkowski[1]) war der erste, der die nicht wiedergefundene Benzoesäure mit der im Benzoesäureharn auftretenden reduzierenden Substanz in Beziehung brachte; jetzt hat Magnus-Levy[2]) durch Versuche am Hammel sichergestellt, daß es sich um eine rechtsdrehende Glycuronsäureverbindung der Benzoesäure handelt, die neben der Glycocollpaarung eine Rolle spielt. Meine Versuche, in denen die reduzierende Substanz beachtet wurde, stehen insofern in Einklang mit diesen Ergebnissen, als das reduzierende, rechtsdrehende Vermögen des Harns den Zusammenhang mit dem Benzoesäure-Defizit klar erkennen läßt. In den Versuchen I, II und IX, in denen die eingeführte Benzoesäure so gut wie quantitativ[3]) ausgeschieden wurde, ließen die Harne Reduktionsvermögen und R-Drehung vermissen, das minimale Reduktionsvermögen bei geringfügiger L-Drehung in Vers. IX findet seine Erklärung in der fleischreichen Kost. In Versuch IV, wo mindestens 2,7 g Benzoesäure (6,7 Proz.) verloren gingen, reduzierte der Urin stark und drehte am Polarisationssaccharometer = 0,25 Proz. rechts, während in Versuch VII bei einem Defizit von 0,3 g Benzoesäure (0,75 Proz.) der Urin nur wenig reduzierte und eine R-Drehung von 0,06 Proz. zeigte.

Die in meinen Versuchen durch die Benzoesäuredarreichung dem Organismus entzogenen Glycocollmengen übersteigen weit die Mengen, die aus den mit der Nahrung eingeführten Eiweißquantitäten gebildet werden konnten. Allerdings zeigte sich auch in den folgenden Versuchen, daß durch die Benzoesäure die N-Ausfuhr im Harn gesteigert wird:

---

1) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. IV.

2) Biochem. Zeitschr. Bd. VI, S. 502, 1907.

3) Quantitativ kann die Ausscheidung in dieser Richtung nicht genannt werden, da die normaler Weise ausgeschiedene Hippursäure nicht in Rechnung gezogen wurde. Da dieselbe durchschnittlich nur Bruchteile eines Gramm beträgt, fällt der Fehler für die Beurteilung dieses Verhältnisses nicht ins Gewicht.

Versuch V.

K. (dasselbe Individuum wie in Vers. 3—4.)

	Nahrung	Harn-N.	Hippursäure
1. Tag	200 g Schwarzbrot, 200 g Milch, 200 g Butter, 100 g Backpflaumen, 1 kg Weißkraut, 50 g Zucker	7,27	—
2. „	dasselbe	6,78	—
3. „	„	4,14	—
4. „	dasselbe und 40 g Acid. benz.	9,03	40,31
5. „	dasselbe	5,7	—
6. „	„	4,8 [1]	—
7. „	„	5,2	—

Versuch VI.

K. (siehe Vers. 5).

	Nahrung	Harn-N.	Harnsäure	Hippursäure
1. Tag	200 g Schwarzbrot, 100 g Weißbrot, 100 g Butter, 100 g Reis, 200 g Milch, 100 g Zucker, 1 kg Kraut, 30 g Speck	9,53	0,38	—
2. „	dasselbe	8,68	0,42	—
3. „	„	7,89	0,44	—
4. „	dasselbe und 25 g Acid. benz.	9,31	0,21	34,99
5. „	dasselbe	5,32	0,46	—
6. „	„	6,08	0,46	—

Versuch VII.

L. 56jähriger Mann. Gewicht 71 kg. Monarthritis. Innere Organe gesund.

	Nahrung	Harn-N.	Harnsäure
1. Tag	dasselbe wie in Versuch VI	5,94	—
2. „	dasselbe	5,39	0,32
3. „	„	6,45	0,35
4. „	dasselbe und 30 g Acid. benz.	8,57	0,28
5. „	dasselbe	5,13	0,44
6. „	„	6,18	0,41

Die von Salkowski [2]) entdeckte Steigerung der N-Ausfuhr ist von Virchow, [3]) Kumagawa [4]) und anderen mit wechselndem

1) Eine Urinportion verloren.
2) l. c.
3) Zeitschr. f. phys. Chem., Bd. VI.
4) Virchows Archiv 113.

Erfolge nachgeprüft worden und hat von den einzelnen Forschern eine verschiedene Beurteilung erfahren. Salkowski faßt fremde und eigene Erfahrungen dahin zusammen, daß es sich beim Hunde um eine Steigerung des Eiweißumsatzes handelt, die in Abhängigkeit von dem Umfange der Hippursäuresynthese steht, und zwar derart, daß Tiere, die durch ausgiebige Glycocollpaarung die Benzoesäure zu entgiften imstande wären, den gesteigerten Stoffzerfall vermissen ließen. Demgegenüber ist aber von Pribram[1]) und durch Wiechowski festgestellt worden, daß der Stoffwechsel des Kaninchens durch Hippursäurezufuhr ebenso intensiv wie durch Benzoesäure angeregt wird, von einer Entgiftung durch die Synthese also nicht die Rede sein kann.

Nehmen wir nun zunächst auch an, daß die gesteigerte N-Ausausscheidung als ein Ausdruck eines gesteigerten Eiweißzerfalls im Organismus anzusehen ist, so wären die von mir in der Hippursäure gefundenen Glycocollmengen immer noch außerordentlich viel größer als die Mengen, die von den zersetzten Eiweißsubstanzen abgeleitet werden können. Da die chemische Analyse des Eiweiß nur einen Glycocollgehalt von 4,7 Proz. ergibt und in meinen Versuchen die Relation $\frac{\text{Glycocoll-N}}{\text{Gesamt-N}}$ 34,9 Proz. erreichte, so ist dieses Mehr an Glycocoll nicht ohne weiteres verständlich; man könnte sich über seine Herkunft sehr verschiedene Vorstellungen machen:

1. könnte man sich vorstellen, daß aus den im Organismus zerfallenden Eiweißsubstanzen doch sehr viel größere Glycocollmengen entstehen könnten. Eine solche Mehrbildung von Glycocoll könnte man sich auf zwei verschiedenen Wegen verlaufend denken: entweder könnten höhere Aminosäuren (Leucin, Alanin etc.) vor ihrer Desamidierung bis zu Glycocoll oxydiert werden und dann mit der Benzoesäure sich paaren, oder aber man könnte die Glycocollentstehung durch Oxydation aus höheren Aminosäuren in der Weise herleiten, wie sie Magnus-Levy[2]) jüngst experimentell zu begründen suchte. Er ging von der Idee aus, daß aus dem Eiweiß im Organismus durch die gewöhnliche hydrolytische Spaltung verschiedene Aminosäuren (Leucin, Alanin etc.) entstehen, die sich direkt mit Benzoesäure paaren, und daß dann erst diese benzoylierten Aminosäuren oxydativ zu Hippursäure abgebaut werden. Er prüfte die Benzoylverbindungen von 11 bekannten Aminosäuren

1) Archiv f. exp. Path. u. Pharm., Bd. 51.
2) Biochem. Zeitschr. 1907, Bd. VI, S. 541.

in dieser Richtung, indem er sie dem tierischen Organismus einverleibte, und fand, daß alle diese Körper unverändert in den Harn übergingen Nur die Benzoylverbindung einer „unbekannten Aminosäure“ erfuhr die Umwandlung in Hippursäure, ein Ergebnis, das noch nicht zu weiteren Schlüssen berechtigt.

2. wäre an die synthetische Bildung von Glycocoll aus Ammoniak und Essigsäure zu denken, für die namentlich R. Cohn[1]) eingetreten ist; indessen kann diese Art der Glycocollentstehung noch nicht als bewiesen gelten.

3. käme auch hier ein partieller Abbau von Eiweißsubstanzen in Betracht, wie ihn die Untersuchungen von Umber[2]) erwiesen haben, wie er von Kraus[3]) für gewisse Kohlehydratgruppen sowie von Groß und Allard[4]) für die Homogentisinsäure beschrieben worden ist.

Die Benzoesäure würde dann die Glycocollgruppe, deren sie zur Paarung bedarf, aus den Eiweißmolekülen entbinden, die selbst nicht weiter abgebaut würden. Es wäre das eine Auffassung der Stoffwechselvorgänge, wie sie besonders in der modernen Serologie Eingang gefunden hat und die Grundlage der Ehrlichschen Seitenkettentheorie bildet. Die Benzoesäure würde dann dem Complement, die Glycocollgruppe dem Amboceptor entsprechen.

Mit einer solchen Vorstellung würde es in Einklang stehen, daß in meinen Versuchen (S. 405) die nach Benzoesäure erfolgte Mehrausscheidung von N im Harn annähernd der in dem Glycocoll der gebildeten Hippursäure enthaltenen N-Menge entspricht. Es wäre vielleicht durch Bestimmung der P- und S-Ausscheidung im Harn in ihrem Verhältnis zur N-Ausscheidung experimentell zu prüfen, ob die bei der Benzoesäure-Darreichung beobachtete erhöhte N-Ausfuhr auf einen erhöhten Eiweißzerfall oder nur auf eine vermehrte Glycocollabgabe zu beziehen ist.

4. ist der Nuclein-Stoffwechsel in Beziehung zur Glycocollbildung gebracht worden. Besonders nachdem Weiß[5]) seine Empfehlung der Chinasäure zur Behandlung der Gicht damit zu begründen versucht hatte, daß die durch Reduktion der Chinasäure im Darmkanal entstehende Benzoesäure dem Organismus Glycocoll und dieses seiner Verwendung zur Harnsäurebildung entzöge, hat

---

1) Archiv f. exp. Path. u. Ther., Bd. 53, S. 435, 1905.
2) Berl. klin. Wochenschr. 1903.
3) Deutsche med. Wochenschr. 1903.
4) Zeitschr. f. klin. Med., Bd. 64, 1907.
5) Verhandl. d. Deutsch. Naturf. u. Ärzte-Gesellsch. München 1899.

der Einfluß dieser Verbindungen auf die Harnsäureausscheidung mehrfach die Forscher beschäftigt. Während eine große Reihe von Untersuchungen zu negativen oder inkonstanten Resultaten geführt hatte, sahen Huber und Lichtenstein[1]) die Harnsäureausscheidung regelmäßig unter dem Einfluß der Benzoesäure oder ihrer Vorstufen abnehmen; de la Camp[2]) sowie Blumenthal und Lewin[3]) kamen zu dem gleichen Ergebnis nur unter Umständen, wo eine gesteigerte Harnsäureausfuhr vorhanden war. Demgegenüber zeigen meine Versuche VI und VII eine erhebliche Verminderung einer an sich geringen Harnsäureausscheidung.

Die Deutung dieses Zusammenhangs wollen wir dahingestellt sein lassen. Als Quelle für die in unseren Versuchen vom Organismus gelieferten Glycocollmengen kommt die Harnsäure jedenfalls nicht in Betracht. Denn einerseits ist die Oxydation der Harnsäure zu Glycocoll unwahrscheinlich geworden, nachdem Wiechowski[4]) ihren quantitativen Abbau zu Allantoin in den tierischen Geweben gezeigt hat, andererseits ist der Harnsäurestoffwechsel zu unerheblich, um bei den enormen Glycocollmengen, die hier in Frage kommen, wesentlich ins Gewicht zu fallen. So betrug im Versuch VI der Glycocoll-N 2,7 g, während zugleich die Einschränkung der Harnsäureausfuhr auf weniger als die Hälfte nur 0,08 g N zur Verfügung stellte.

Um einen tieferen Einblick in die Einzelheiten zu gewinnen, die dem Vorgang der Hippursäuresynthese zugrunde liegen, wäre es nötig, größere Untersuchungsreihen beim Menschen anzustellen und dabei die Bedingungen der Versuche nach verschiedenen Richtungen zu variieren. Jedoch sind hier dem Experimente Grenzen gezogen dadurch, daß die Benzoesäure, in großen Dosen zugeführt, unter Umständen eine für den Organismus nicht gleichgültige Substanz ist, und es erschien nach dem Ergebnis von Versuch IV, wo 40 g Benzoesäure bei gleichzeitig beschränkter Eiweißzufuhr schon gewisse unangenehme Nebenwirkungen hervorriefen, nicht unbedenklich, diese Gabe ohne weiteres zu steigern.

Es lag nun der Gedanke nahe, die eben erreichte Giftwirkung der Substanz mit der Glycocollverarmung des Körpers, die durch die Benzoesäurezufuhr bewirkt wurde, in Beziehung zu setzen; war diese Annahme richtig, so mußte von demselben Individuum die gleiche Dosis gut vertragen werden, wenn man gleichzeitig ein Glycocoll spendendes Material in reichlicher Menge zuführte. Das geschah in den folgenden Versuchen, bei welchen neben der Benzoesäure eiweißreiche Nahrung verabfolgt wurde:

---

1) Berl. klin. Wft. 1902.
2) Münch. med. W t. 1901.
3) Ther. d. Gegenw. 1900.
4) Hofmeisters Beitr. 1907.

Versuch VIII.

K. (dasselbe Individuum wie im Versuch III und IV) erhält nach mehrtägiger Eiweißmast 40 g *Acid. benzoic.* in derselben Anordnung wie in Versuch IV. Daneben aber Eiweiß- und speziell leimreiche Kost (Kalbsgelée). Die Dosis wird diesmal *ohne alle Nebenerscheinungen* vertragen.

In 24 Stunden, von Beginn des Versuches an, werden gesammelt: 2960 ccm Harn vom spezif. Gew. 1025, sauer reagierend.

darin enthalten:

23,7 g *Gesamtstickstoff*

52,0 g Hippursäure entsprechend: 35,6 Benzoesäure

4,1 g *ungepaarte Benzoesäure*

daraus berechnet die Menge der ausgeschiedenen *Gesamt-Benzoesäure*: 39,7 g.

$$\frac{\text{ungepaarte Benzoesäure}}{\text{Gesamt-Benzoesäure}} = 10,3 \text{ Proz.}$$

Der Harn zeigt ein geringes Reduktions-Vermögen und am Polarisations-Saccharometer eine R.-Drehung = 0,06 Proz.

Daß unter Zugabe eiweißreicher Kost der Organismus sogar noch größere Mengen Benzoesäure gut verträgt, beweist

Versuch IX.

K. (dasselbe Individuum) erhält unter genau denselben Bedingungen wie im Versuche VIII 50 g *Acid. benzoic.* Keinerlei Nebenerscheinungen.

In 24 Stunden, von Beginn des Versuches an werden gesammelt: 3460 ccm Harn vom spezif. Gewicht 1020, sauer reagierend,

darin enthalten:

29,1 g *Gesammt-Stickstoff*

62,3 g Hippursäure entsprechend 42,4 g Benzoesäure

8,2 g *freie Benzoesäure*

daraus berechnet die Menge der ausgeschiedenen *Gesamt-Benzoesäure*: 50,6 g

$$\frac{\text{ungepaarte Benzoesäure}}{\text{Gesamt-Benzoesäure}} = 16,2 \text{ Proz.}$$

Der Harn zeigt ein minimales Reduktions-Vermögen und eine Spur L-Drehung.

Die Menge von 62,3 g Hippursäure im 24-Stunden-Urin, die in Versuch IX gewonnen wurde, hätte sich bei gesteigerter Benzoesäuredosis wahrcheinlich noch übertreffen lassen; doch ist das nicht von prinzipieller Wichtigkeit.

Die Versuche zeigen jedenfalls, daß unter dem Einfluß der Eiweißzulage eine nicht nur absolut, sondern auch relativ größere Menge von Benzoesäure in Hippursäure übergeführt werden kann. Während K. nach Zufuhr von 40 g Bezoesäure im IV. Versuch 40,3 g Hippursäure und 9,7 g (26,0 Proz.) freie Benzoesäure ausschied, erscheinen in Versuch VIII bei derselben Dosis 52 g Hippursäure und nur

4 g (10,3 Proz.) freie Benzoesäure. Es war also der Glycocollmangel, der den Umfang der Hippursäuresynthese in Versuch IV einschränkte; wurde der Glycocollvorrat durch eine Eiweißzulage in der Kost erhöht, so stieg auch der Umfang der Hippursäuresynthese. Es steht das in Übereinstimmung mit Ergebnissen von R. Cohn,[1]) der bei Kaninchen eine Zunahme des Syntheseumfanges bei gleichzeitiger Gelatinezufuhr beobachtete.

Bemerkenswert ist das Verhalten der reduzierenden Substanz: In den Versuchen I und II, wo der Organismus die zugeführten Benzoesäuregaben ausreichend an Glycocoll zu kuppeln vermag, fehlt sie; in Versuch IV, wo bei beschränkter Eiweißzufuhr ein offenbarer Glycocollmangel vorliegt, tritt die reduzierende Substanz stark in die Erscheinung, um in den Versuchen VIII und IX, wo dem Körper auch für die größeren Benzoesäuremengen ausreichende Glycocollmengen zu Gebote standen, fast, resp. ganz zu verschwinden. Wir werden daher das Auftreten der reduzierenden Substanz als einen Ausdruck für die Glycocollverarmung des Organismus betrachten dürfen. Solange das Glycocoll ihm ausreichend zu Gebote steht, zieht er diesen Paarling vor, sei es, daß die Entstehungsbedingungen für denselben günstiger sind, sei es, daß diese Synthese sich leichter vollzieht.

Es steht das in Übereinstimmung mit einem Ergebnis Wiechowskis,[2]) der die Abhängigkeit des Benzoesäure-Defizits von dem Umfange der Hippursäure-Synthese konstatierte. Und zwar stellte er fest, daß Kaninchen bei gleicher Dosis um so weniger Gesamt-Benzoesäure ausscheiden, je weniger Glycocoll sie zu paaren vermögen.

Um einen Einblick in die Leistungsfähigkeit der Organe, die den synthetischen Prozeß vermitteln, zu gewinnen, erscheint es zweckmäßig, die Beobachtungen auf pathologische Verhältnisse auszudehnen, bei denen gewisse Organe in ihren Funktionen beeinträchtigt sind. Aus Schmiedeberg und Bunges Versuchen ist die Bedeutung, die der Niere für das Zustandekommen der Glycocoll-Benzoesäure-Paarung zugewiesen ist, bekannt, es hat daher die Prüfung dieser Funktion bei Erkrankungen des Organs schon mehrfach die Forscher beschäftigt.

Jaarsveld u. Stockvis[3]) kamen auf Grund ihrer umfangreichen Untersuchungen zu der Ansicht, daß Benzoesäure bei Schrumpfniere und Stauungsniere nur als Hippursäure, hingegen bei parenchymatöser

1) Jaffe-Festschrift l. c. 2) l. c. 3) l. c.

Nephritis vollständig oder zum großen Teil ungepaart im Harn wieder erscheint. 2 Fälle von Nierenamyloid zeigten ein wechselndes Verhalten. Der Wert dieser Resultate wurde durch die Versuche von v. d. Velde und Stockvis[1]) in Frage gestellt, die darauf hinwiesen, wie leicht sich die Hippursäure außerhalb des Organismus zersetzt, und wie diese Zersetzung durch alkalische Reaktion oder hohen Eiweißgehalt des Harns begünstigt wird. Wenig später gelangte Kronecker[2]), der vor allem das Verhältnis Hippursäure: Benzoesäure berücksichtigte, zu dem Ergebnis, daß bei Nieronaffektionen das Vermögen des Organismus Hippursäure zu bilden leidet, daß es dabei aber weniger auf die Art als auf die Schwere der Erkrankung ankommt. Lewin[3]) schließlich fand, daß die Menge der — ohne Benzoesäurezufuhr — ausgeschiedenen Hippursäure bei Nierenaffektionen meistens eine Steigerung, nie eine Herabsetzung erfährt.

Da die bisherigen Untersuchungen mit kleinen Benzoesäuremengen von 1—2 g und noch weniger ausgeführt wurden, so ermutigten mich meine Ergebnisse an gesunden Menschen die Versuchen mit Dosen, wie sie zur Aufklärung dieser Verhältnisse noch nicht gereicht wurden, auch auf zwei nierenkranke Individuen auszudehnen, in der Erwartung durch die größere Zumutung an die Leistung des Organs auch einen tieferen Einblick in die event. vorhandenen Störungen zu erhalten. Um die Funktion der gesunden Niere als Maßstab zu gewinnen, hätte ich eigentlich Benzoesäuredosen verabfolgen müssen, an denen sich das synthetisierende Vermögen normaler Menschen eben erschöpfte. Aber einmal spricht alles dafür, daß diese Grenze individuell verschieden ist, sodann zwang mich auch der schwere Zustand meiner Patienten zur Vorsicht.

Versuch X.

M. 18 Jahre alt.

Chronische parenchymatöse Nephritis schwerster Form. (Später durch Autopsie bestätigt.) Hochgradiges allgemeines Anasarka. Mäßige urämische Erscheinungen. Harnmenge schwankt zwischen 400 und 700 ccm, der Eiweißgehalt zwischen 15 bis 25 ‰. Charakteristisches Harnsediment.

Erhält innerhalb von 9 Stunden zirka 12 g Benzoesäure als Na-Salz auf stündliche Dosen gleichmäßig verteilt. Keine Nebenerscheinungen.

24 Stundenmenge des Urins

	Reaktion	ccm	spez. Gew.	Eiweißgehalt (Eßbach)	Hippurs.	fr. Benzoes.
am Versuchstage	sauer	800	1027	20 ‰	15,8 g	keine Spur
am Nachtage	sauer	470	1032	25 ‰	2,05 g	keine Spur

1) l. c. 2) Archiv f. exp. Path. u. Pharm., Bd. 16.
3) Zeitschr. f. klin. Med., Bd. 42.

Versuch XI.

W. 56 Jahre alt.

Schrumpfniere. (Später durch Autopsie bestätigt.) Blutdruck 235 systol., 195 diastol. Retinitis albuminurica. Urämische Kopfschmerzen und Erbrechen. Eiweißgehalt des Urins 1—1½ ‰.

Erhält in 8 Stunden zirka **9 g Benzoesäure** als Na-Salz auf stündliche Dosen gleichmäßig verteilt. Keine Nebenerscheinungen. 24 Stunden-Menge des Urins:

	Reaktion	ccm	spez. Gew.	Eiweißgehalt (Eßbach)	Hippurs.	fr. Benzoes.
am Versuchstage	sauer	1710	1014	1½ ‰	**10,98**	0,33
am Nachtage	sauer	1370	1012	1 ‰	2,48	0,12

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß das hippursäurebildende Vermögen des nierenkranken Organismus noch ein recht erhebliches ist. Der Patient mit der schweren parenchymatösen Nephritis vermochte sogar noch 12 g Benzoesäure in ausschließlich gepaarter Form auszuscheiden.

Bemerkenswerterweise versagte die Schrumpfniere schon bei einer erheblich geringeren Anforderung an ihre Leistungsfähigkeit und gestattete freier Benzoesäure den Durchtritt. Es scheint also das Vermögen der Hippursäurebildung nicht allein von der Schwere der Krankheit, wie Kronecker meint, sondern bis zu einem gewissen Grade auch von der Form des Kranheitsprozesses abhängig zu sein. Daß die spezifischen Funktionen des Drüsenparenchyms gerade bei der Schrumpfniere stärker leiden, steht ja auch mit den sonstigen Erfahrungen in Einklang.

Beiden Nephritisformen gemeinsam aber ist die verlangsamte Ausscheidung der Substanz. Während meine gesunden Versuchspersonen Dosen bis zu 25 g in dem ersten 24-Stunden-Urin so gut wie quantitativ und am Nachtage nur wenige Decigramm Hippursäuse ausschieden, kam bei den Nierenkranken ein erheblicher Bruchteil der gereichten Gabe erst am Nachtage zum Vorschein.

Es wäre von Interesse die Grenzen der Hippursäuresynthese noch in weiteren Krankheitszuständen zu verfolgen und namentlich das Fieber und Konstitutionsanomalieen in den Kreis der Betrachtung zu ziehen. Um ein Urteil über die Leistungsfähigkeit des Organismus in dieser Richtung zu gewinnen, müßten aber die Untersuchungen unter Anwendung weit größerer Benzoesäuredosen, als es bisher geschehen ist, durchgeführt werden, da die Grenze des Hippursäurebildungsvermögens für den gesunden Menschen, wie aus meinen Versuchen hervorgeht, sehr hoch liegt.

XXIII.

Arbeiten aus dem Laboratorium für experimentelle Pharmakologie zu Straßburg.

203. Über die herzhemmende Digitalinwirkung.

Von

Kurt Huldschinsky.

(Mit 4 Kurven).

Nachdem man die Veränderungen kennen gelernt hatte, die der Blutdruck unter dem Einfluß der Stoffe der Digitalin- und Digitoxingruppe erfährt, und die in einer Steigerung des arteriellen Druckes bestehen, wies F. Williams[1]) als erster nach, daß das Herzvolumen d. h. die Menge des bei jeder Kontraktion aus dem Herzen in die Aorta getriebenen Blutes, eine Vergrößerung erfährt.

Die Erklärung des Zustandekommens dieser Volumenvergrößerung machte Schwierigkeiten, da bisher nur bekannt war, daß das Herz, speziell des Frosches, bei einer stärkeren Wirkung dieser Stoffe in Systole zum Stillstand kommt. Da nun schon unter gewöhnlichen Verhältnissen die Systole eine so vollständige zu sein pflegt, daß die Innenwandungen des Herzens sich berühren, so kann jene Volumzunahme nicht dadurch zustande kommen, daß die Systole vollständiger wird.

Da fand im Jahre 1900 Jakobj[2]), daß das isolierte Froschherz, in eine Lösung von Helleboreïn getaucht, nicht wie er erwartete, in Systole, sondern in Diastole stillstand.

Diese Beobachtung von Jacobj wurde der Ausgangspunkt für eine Reihe weiterer Untersuchungen. Zunächst stellte Wybauw unter Mithilfe von Jacobj[3]) eingehende Versuche über die Digitalinwirkung bei Anwendung auf die Außenfläche der isolierten Froschherzen an.

1) Williams, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 13, 1. 1880.
2) Jacobj, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 44, 368, 1900.
3) Wybauw und Jacobj, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 44, 434, 1900.

Er fand, daß hierbei die Pulsfrequenz sinkt, das Pulsvolumen zunimmt und das Herz schließlich in Diastole stillsteht. Sich selbst überlassen, geht dann der diastolische Stillstand allmählich in die systolische Stellung über, bei der dann alle typischen Merkmale der Digitalinvergiftung zu finden sind.

Wybauw erklärte das Zustandekommen des diastolischen Stillstands von einer Erregung der nervösen Hemmungsvorrichtungen abhängig. Diese trete auch bei der innerlichen Anwendung des Helleboreïn ein, es käme aber nicht zum diastolischen Stillstand, weil die Wirkung auf die inneren Schichten überwiege.

Bei äußerer Anwendung dagegen werden die nervösen Elemente in höherem Maße, die Muskeln aber nur teilweise getroffen. Diese Form der Digitalinwirkung bestehe „in einer Erhöhung der Erregbarkeit der Bewegungselemente des Ventrikels", gleichviel ob man diese Elemente als nervösen oder muskulären Charakters ansprechen wolle.

Benedicenti[1]) hat die übrigen Stoffe der Digitalingruppe in diesem Sinne untersucht und gefunden, daß qualitative Unterschiede nicht bestehen. Er fand ferner, daß der diastolische Stillstand anfangs kein dauernder ist, sondern nach wenigen Minuten von spontanen Kontraktionen unterbrochen wird, bis endlich nach einiger Zeit Dauerstillstand eintrete. Atropin hat keinen Einfluß auf diese Erscheinungen.

Er kam zu dem Schluß, daß die inneren und äußeren Muskelschichten des Herzens gewisse Unterschiede in der Anordnung ihrer Fasern zeigen müßten.

Nach Schmiedeberg[2]) stimmt der durch die Stoffe der Digitalingruppe hervorgerufene diastolische Stillstand in seinen äußeren Erscheinungen vollkommen mit den Folgen der Erregung der Hemmungsvorrichtungen überein. Wahrscheinlich handle es sich in beiden Fällen um eine aktiv herbeigeführte Erschlaffung der oberflächlichen Schichten des Herzmuskels. Nur treffe die Digitalinwirkung direkt die letzteren, während bei Reizung der nervösen Hemmungsvorrichtungen die Erregung von diesen auf den Herzmuskel übertragen werde.

Daß hier, schreibt Schmiedeberg weiter, durch Nervenerregung direkt Muskelerschlaffung herbeigeführt werden kann, ist kein ungewöhnlicher Vorgang, sondern findet sein Analogon in der Erschlaffung gewisser Gefäßgebiete bei Erregung ihrer Nerven.

1) Benedicenti, Exp. f. exper. Path. u. Pharm. 47, 360, 1903.
2) Schmiedeberg, Grundriß d. Pharmakologie, 5. Aufl., S. 271, 1906.

Wenn die Zunahme des Pulsvolumens und die Verlangsamung der Pulsfrequenz gleichzeitig auftreten, so bedeutet dies, daß in diesem Stadium der Digatilinwirkung die diastolische Tätigkeit der oberflächlichen Herzmuskelschichten im Vergleich zu der systolischen der inneren stärker geworden ist als im Normalzustande.

Endlich hat Baldoni[1]) entsprechende Versuche bei Warmblütern angestellt, indem er die Stoffe in die Pericardialhöhle injizierte. Die Ergebnisse waren die gleichen wie am Froschherzen.

Meine Aufgabe bestand darin, zu prüfen, ob es sich bei dieser Digitalinwirkung auf die äußeren Schichten des Herzmuskels in der Tat um eine Hemmung in demselben Sinne handelt, wie bei der Erregung der nervösen Hemmungsvorrichtungen. Wenn das der Fall ist, so muß der diastolische Stillstand auch dann zustande kommen, wenn man zuerst Helleboreïn in solchen Mengen auf die Außenfläche des Herzens bringt, daß man eine zwar deutliche, aber zur Hervorbringung des diastolischen Stillstandes unzureichende Wirkung erhält, und wenn man darauf eine am unvergifteten Herzen unwirksame Erregung der Hemmungsvorrichtungen folgen läßt.

Man kann natürlich den Versuch auch in der umgekehrten Reihenfolge ausführen, indem man zuerst die Hemmungsvorrichtungen erregt und dann Helleboreïn appliziert.

Die Addition dieser Wirkungen muß, wenn sie gleichartig sind, einen diastolischen Stillstand herbeiführen.

Die Erregung der nervösen Hemmungsvorrichtungen kann entweder durch Vagusreizung oder durch Muscarin hervorgebracht werden.

Die Vagusreizung erfolgte an Fröschen von der Medulla oblongata aus, nicht nur, weil diese Versuchsanordnung einfacher ist, als die Bloßlegung der Vagi, sondern weil dabei beide Vagi gleichzeitig erregt werden, ohne sich auf den Elektroden während des Versuchs zu verschieben, wie dies häufig bei der Überbrückung derselben mit bloßgelegten Nerven der Fall ist. Auch wird hierbei eine Reizung der im peripheren Teil des Vagus verlaufenden beschleunigenden Fasern vermieden.

Den curarisierten Fröschen wurden zwei im Abstand von 5 mm durch einen Kork geführte Stahlnadeln in die Medulla oblongata eingestochen. Die Nadeln waren mit den Polen der sekundären Spule eines Induktionsapparates verbunden.

Die Reizung erfolgte durch einmaliges kurzes Schließen des Stromes. Die Reizstärke wurde nach dem Rollenabstand bemessen.

1) Baldoni, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 52, 205, 1905.

Durch allmähliches Vergrößern des Rollenabstandes wurde dann der größte Abstand, d. h. der schwächste Strom ermittelt, bei welchem eben noch Stillstand eintrat.

Wenn dann die Reizschwelle ermittelt war, wurde mit der scharfen Nadel einer Pravazschen Spritze schräg unter das Pericard 1—2 Tropfen einer 1 prozentigen Helleboreïnlösung eingespritzt.

Sobald die Wirkung auf die diastolische Stellung des Herzens eingetreten war, wurde der Rollenabstand bestimmt, bei welchem jetzt die Vagusreizung diastolischen Stillstand hervorrief.

Diese Versuche ergaben ausnahmslos, daß die Reizschwelle jetzt tiefer lag, indem ein schwächerer Strom ausreichte, um den diastolischen Stillstand herbeizuführen.

Folgende Versuche mögen als Beispiel dienen.

1. Versuchsreihe.

Versuch 1. Rana esculenta.
Die Rollenabstände in cm.

Reizschwelle vor der Helleboreïninjektion	5,3 cm
Reizschwelle nach der Injektion von 0,1 mg Helleboreïn ins Pericard	7,0 „

Versuch 2. Rana esculenta.

Reizschwelle vor Injektion	3,0 cm
„ nach 0,01 mg	6,5 „

Versuch 3. Rana esculenta.

Reizschwelle vor der Injektion	3,0 cm (stärkster Strom)
„ nach 0,01 mg	4,0 „

Versuch 4. Rana temporaria.

Reizschwelle vor Injektion	3,1 cm
„ nach 2 Tropfen 0,1 proz. Lösung	7,0 „

Der Erfolg trat sehr bald ein, meist schon nach etwa 5 Minuten, während der diastolische Stillstand nach pericardialer Injektion in der Regel erst nach 15—20 Minuten einzutreten pflegt. Dies erweckte den Verdacht, ob nicht vielleicht der mechanische Reiz während der Injektion oder der Druck der injizierten Flüssigkeit an sich die Reizschwelle herabsetzt. Ich injizierte daher Wasser und physiologische NaCl-Lösung in verschiedenen Mengen, von einem Tropfen bis 0,5 ccm; die Reizschwelle wurde aber dadurch niemals verändert.

Ferner fand ich, daß nach vorheriger pericardialer Injektion subcutan appliziertes Helleboreïn die Reizschwelle noch weiter herabsetzt, was ja nicht auffällt, da die Diastole bei jeder Applikationsweise des Helleboreïn zunächst wächst.

Eine zweite Versuchsreihe stellte ich derartig an, daß ich mit schwachen Strömen längere Zeit reizte und dann die Zeiten bis zum

Eintritt des Stillstandes vor und nach der Injektion verglich. Auch hier ergab sich eine Additionswirkung durch früheren Eintritt des Stillstandes nach Injektion von Helleboreïn. Folgende Beispiele erläutern dies.

2. Versuchsreihe.

Versuch 1. Rana temporaria.
a) Rollenabstand 7 cm.

Reizdauer vor der Injektion	15	Sek.
= nach 0,01 mg	12	=

b) Rollenabstand 8 cm.

Reizdauer vor der Injektion	22	Sek.
= nach = =	15	=

Versuch 2. Rana esculenta.
Rollenabstand 12 cm (schwächster Strom).

Reizdauer vor der Injektion	4	Sek.
= nach = =	2	=

Aus diesen Versuchen geht eindeutig hervor, daß die Wirkung des Helleboreïns auf die äußeren Schichten des Herzmuskels und die Erregung der nervösen Hemmungsvorrichtungen durch Vagusreizung sich addieren und es demnach gleichartige Wirkungen handelt.

Sehen wir nun, wie sich die Verhältnisse gestalten, wenn man die Vagusreizung durch Muscarinvergiftung ersetzt. Bekanntlich ist die Wirkung des Muscarins auf das Herz mit der Wirkung der Vagusreizung identisch. Cushny[1]) fand dabei eine Zunahme der Ausdehnbarkeit des Herzmuskels, Verminderung der Pulszahl und Abschwächung der Kontraktionsgröße.

Widersprechende Angaben sollen entweder auf Verwendung unreiner Präparate zurückzuführen sein, oder auf Anwendung des synthetischen Muscarins, das mit dem aus den Fliegenpilzen gewonnenen Alkaloid nicht identisch ist.

Ich versuchte zuerst, die Untersuchungen an bloßgelegten Herzen vorzunehmen, wie bei den oben beschriebenen Versuchen.

Dies führte aber zu keinen deutlichen Resultaten. Denn bei den minimalen Muscarindosen, die ich anwenden mußte, stellte sich eine große Inkonstanz betreffend Intensität und Dauer der Wirkung heraus, wahrscheinlich infolge ungleichmäßiger Resorptionsverhältnisse.

Aber auch bei dieser Anwendung kam es vor, daß die durch Helleboreïn hervorgerufene Verlängerung der Diastole durch Muscarin noch verstärkt wurde und diastolischer Stillstand eintrat.

Genaue Resultate konnten nur am isolierten Herzen zu erwarten sein. Das Herz wurde in der bekannten Weise mit dem Williams-

1) Cushny, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmak. 31, 432, 1893.

schen Apparat verbunden. Als Nährflüssigkeit diente teils die Albanesesche Gummilösung, teils defibriniertes Rinderblut, im Verhältnis 1 : 2 mit 0,6 Proz. NaCl-Lösung verdünnt.

In diesen Versuchen wurde das Muscarin der Durchströmungsflüssigkeit zugesetzt, das Helleboreïn der äußeren Flüssigkeit, in die das Herz eintauchte. Während die Durchströmungsflüssigkeit in verschiedenen Mengen angewandt wurde, die bei den Versuchstabellen angegeben sind, betrug die umspülende Flüssigkeitsmenge konstant 16 ccm.

Es sei hier noch erwähnt, daß die Stoffe der Digitalingruppe sich bei wechselnder Konzentration anders verhalten als das Muscarin. Eine Menge des Helleboreïns, die eine bestimmte Wirkung hervorruft, erreicht die gleiche Wirkung auch bei stärkerer Verdünnung in entsprechend längerer Zeit. Beim Muscarin dagegen kann ein Quantum bei starker Konzentration diastolischen Stillstand hervorrufen, während in doppelt so viel Lösung eine Wirkung dauernd ausbleiben kann.

Einige Versuche mögen zur Erläuterung des Gesagten dienen.

Zu diesen, wie zu den folgenden Versuchen wurden nur Herzen von Rana temporaria benutzt.

3. Versuchsreihe.

Williamsscher Apparat. Der Durchströmungsflüssigkeit wurden 0,02 mg Helleboreïn zugesetzt. Es trat systolischer Digitalin-Stillstand bei einer Flüssigkeitsmenge

von	10	ccm	in	20	Min.
=	25	=	=	30	=
=	50	=	=	45	=
=	100	=	=	95	=

4. Versuchsreihe.

Bei 0,01 mg Helleborein trat der Stillstand ein bei einer Menge der Lösung

von	10	ccm	in	32	Min.
=	20	=	=	39	=
=	40	=	=	97	=
=	60	=	=	111	=
=	80	=	=	148	=

Dagegen sah ich beim Muscarin z. B. nach einer Gabe von 0,01 mg auf 5 ccm fast sofortigen Stillstand eintreten, während die gleiche Gabe auf 15 ccm verdünnt ohne merkliche Wirkung blieb.

Diese Verhältnisse waren bei der kombinierten Anwendung beider Gifte zu berücksichtigen.

Ich verfuhr hierbei folgendermaßen. Es wurde die Menge Helleboreïn ermittelt, die eben noch keinen Stillstand hervorrief desgleichen die entsprechende Menge Muscarin.

Es wurde dabei auch die Zeit festgesellt, in der die betreffenden Wirkungen eintraten.

5. Versuchsreihe.

Versuche mit Helleboreïn.
Menge der umspülenden Flüssigkeit = 16 ccm.

Herz von a)	bei 5 mg	nach	20	Min.	diastolischer Stillstand,
= = b)	= 4 =	=	40	=	Diastolen von 5 Sek.,
= = c)	= 3 =	in	10	=	keine Wirkung,
		=	15	=	Neigung zur Diastole,
		=	65	=	diastolischer Stillstand,
= = d)	= 2 =	nach	25	=	kein Stillstand,
= = e)	= 1 =	=	10	=	vergrößertes Pulsvolumen,
		=	25	=	Neigung zur Diastole,
		=	75	=	Stillstand in Diastole.

Die Mengen von 1—3 mg zeigen also deutliche Wirkung auf die äußeren Herzschichten, ohne daß es im Verlauf von einer Stunde zum Stillstand kommt.

Die gleichen Versuche stellte ich mit Muscarin an.

6. Versuchsreihe.

Versuche mit Muscarin.
Durchströmungsflüssigkeit 15 ccm.

Herz von a)	bei 0,08	mg Muscarin	Stillstand,
= = b)	= 0,06	= =	=
= = c)	= 0,04	= =	Verlängerung der Diastole,
= = d)	= 0,04	= =	Stillstand,
= = e)	= 0,03	= =	Verlängerung der Diastole,
= = f)	= 0,02	= =	desgleichen,
= = g)	= 0,01	= =	keine Wirkung.

7. Versuchsreihe.

Durchströmungsflüssigkeit 10 ccm.

Herz von a—c	bei 0,02	mg Muscarin	kein Stillstand,
= = d u. e	= 0,02	= =	Stillstand,
= = f—k	= 0,01	= =	kein Stillstand.

Die Zeiten konnten hier unberücksichtigt bleiben, da eine Verstärkung der Wirkung bei längerer Dauer nicht eintritt.

Es ergibt sich als günstigste Verhältnisse bei 15 ccm Durchströmungsflüssigkeit: 0,02 mg, bei 10 ccm: 0,01 mg Muscarin.

Nachdem so die für diese Versuche in Betracht kommenden Mengen für jedes der Gifte ermittelt waren, ging ich dazu über, ihre Wirkung zu kombinieren.

Es kam darauf an, durch möglichst günstige Anordnung eine maximale kombinierte Wirkung zu erreichen.

Dabei war zu berücksichtigen, daß die schwächeren Grade der Muscarinwirkung keine andauernd gleichmäßigen sind, sondern sehr bald ein Maximum erreichen, um zuweilen wieder schwächer zu werden. Die Helleboreïnwirkung ist dagegen eine viel langsamer aber stetig wachsende; der einmal erreichte Grad der diastolischen Wirkung hält viel länger und gleichmäßiger an. Daher erhielt ich die günstigsten Resultate, wenn ich das Helleboreïn mit der umspülenden Flüssigkeit etwa 10 bis 15 Minuten lang einwirken ließ, alsdann das Muscarin der durchströmenden Flüssigkeit zusetzte.

Als Gegenprobe setzte ich dann, nachdem Verstärkung der Helleboreïnwirkung oder diastolischer Stillstand eingetreten war, Atropin hinzu, wodurch nur die Muscarinwirkung aufgehoben wurde und das Herz wieder auf die alleinige Wirkung des Helleborein zurück gebracht wurde.

Folgende Versuche mögen als Beispiele angeführt sein.

8. Versuchsreihe.

Versuch 1.

Umspülende Flüssigkeit = 16 ccm
Durchströmende " = 15 "

1 mg Helleboreïn nach 10 Min. kein Stillstand,
dazu 0,03* " Muscarin nach weiteren 10 Min. kein Stillstand.

Versuch 2.

2 mg Helleboreïn nach 10 Min. kein Stillstand,
0,03 " Muscarin " 15 " Stillstand.

Versuch 3.

2 mg Helleboreïn nach 20 Min. kein Stillstand,
0,04 " Muscarin " 10 " Stillstand.

Atropinwirkung bei Versuch 2 und 3 positiv. Bei den folgenden Versuchen nur 10 ccm durchströmende Flüssigkeit.

Versuch 4.

3 mg Helleboreïn nach 10 Min. kein Stillstand,
0,01 " nach weiteren 10 Min. Stillstand.

Atropin: hebt ihn auf.

Versuch 5.

3 mg Helleboreïn nach 10 Min. kein Stillstand,
dazu 0,01 " Muscarin " 3 " Stillstaud.

Atropinwirkung positiv.

Versuch 6.

3 mg Helleboreïn nach 10 Min. verlängerte Diastolen,
0,01 " Muscarin " 2 " Stillstand.

Atropin positiv.

In folgenden Kurven habe ich die kombinierte Anwendung beider Gifte graphisch dargestellt. Die Kurven geben die Veränderungen an, welche die Systole und Diastole unter Einwirkung der Gifte erleiden.

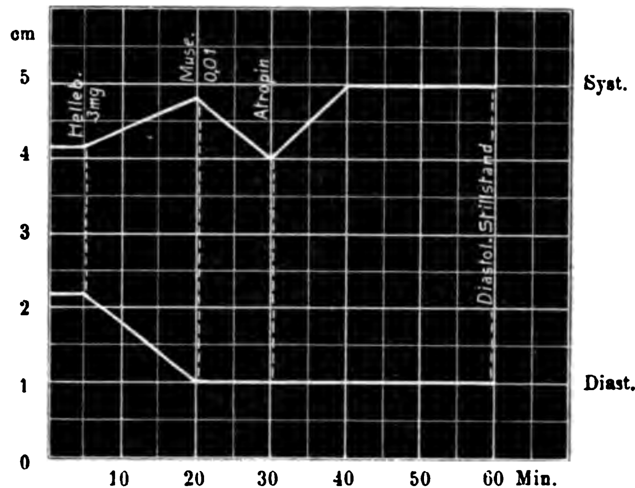


Fig. 1.

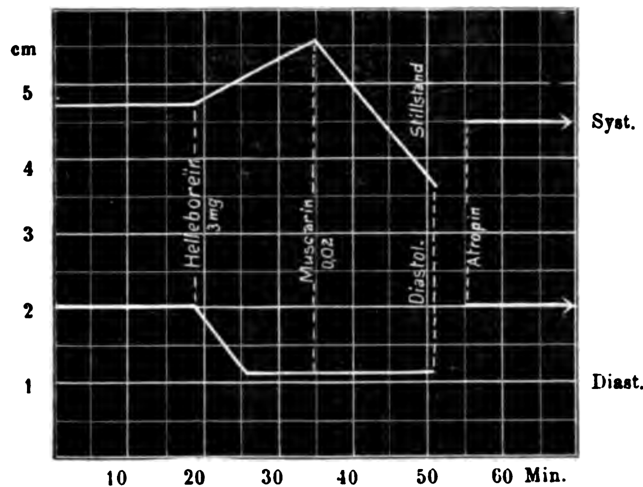


Fig. 2.

Von dem das Herz umschließenden Gefäß geht eine horizontale Röhre ab, das die Volumveränderungen in dem Gefäß anzeigt. Die an diese Röhre angebrachte Skala wurde zur Ablesung der systolischen und diastolischen Exkursionen benutzt.

Die obere Kurve gibt die Systolen, die untere die Diastolen an, sodaß immer der Abstand zweier übereinanderliegenden Punkte das jeweilige Pulsvolumen bedeutet.

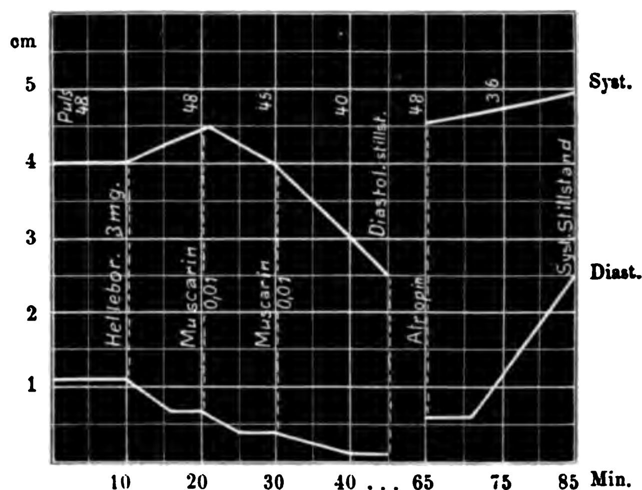


Fig. 3.

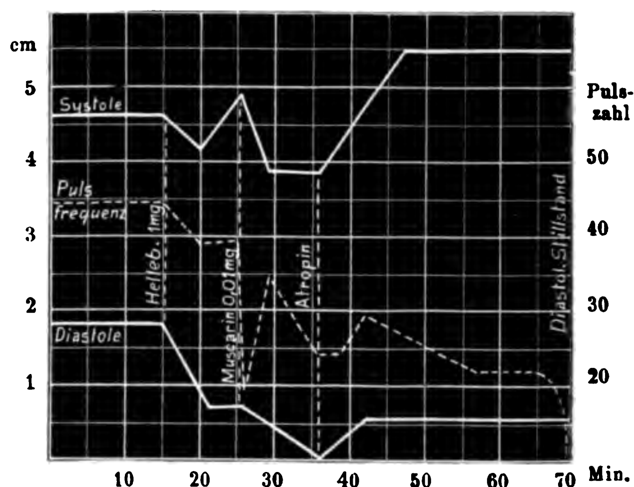


Fig. 4.

Es galt vor allem zu zeigen, daß die durch Helleboreïn vergrößerte Diastole durch Muscarin noch weiter vergrößert wird. (Fig. 3 u. 4). Diese Wirkung kann natürlich nur eintreten, wenn die Helleboreïnwirkung noch nicht maximal ist, wie bei Fig. 1 und 2.

Daß die systolische Exkursion durch Muscarin verringert wir ist eine bekannte Tatsache. Das gleiche macht bisweilen auch da Helleboreïn, nachdem es aber vorher diese Exkursion vergrößert ha

Die Pulszahl verhält sich verschieden. Bisweilen bleibt sie b zum Schlusse konstant, ein andermal tritt Verlangsamung ein.

Das Atropin bringt, wie oben gesagt, das Herz wieder auf di Wirkung des Helleboreïns zurück. Diese kann unterdessen zug nommen haben. Sie wächst dann weiter, und es tritt erst nac längerer Zeit der durch Helleboreïn bewirkte diastolische Stillstan ein. Einmal sah ich nach sehr langer Dauer auch systolischen Stil stand eintreten (Kurve 3).

Die beschriebenen Versuche zeigen, daß in der Tat eine Add tion der Digitalinwirkung bei äußerer Applikation und der Wirkun der Erregung der herzhemmenden nervösen Elemente besteht. Dara läßt sich der Schluß ziehen, daß diese Digitalinwirkung gleichfal die herzhemmenden Vorrichtungen erregt, nur daß es sich hierb nicht um nervöse Elemente, sondern um die äußeren Schichten d Herzmuskels handelt.

XXIV.

Aus dem Universitäts-Laboratorium für medizinische Chemie
und experiment. Pharmakologie zu Königsberg O./P.

Weitere Studien über Cantharidin und Cantharidin-Immunität
(nebst einigen Bemerkungen
zur Wirkung des Mutterkorns auf den Hahnenkamm.)

Von

Alexander Ellinger.

(Mit Tafel IV).

I. Das Verhalten der Igel gegen Cantharidin.

Im 45. Bande dieses Archivs habe ich über Versuche berichtet, in welchen eingehender, als es vorher geschehen war, das Verhalten der Igel gegen das Gift der spanischen Fliegen geprüft war. Das wesentliche Resultat war der Nachweis, daß die Igel gegenüber dem sicher resorbierten Cantharidin sich hochgradig resistent erwiesen, daß aber der Unterschied in der Wirkung beim empfänglichen und beim resistenten Tiere nur ein quantitativer war: wurden einem Igel ausreichend große Dosen des Giftes zugeführt, so erkrankte er unter den Erscheinungen der hämorrhagischen Nephritis und ging zu Grunde wie die empfindlichen Tiere nach kleineren Mengen.

Eigenartig waren die Wirkungen, welche mittlere Gaben des Gifts auf die Igelniere hervorriefen. Nach Einverleibung von zwei bis drei Dosen an auf einander folgenden Tagen entwickelte sich allmählich der Zustand einer chronischen Nephritis, über deren Ausgang ich in der ersten Mitteilung weiter zu berichten versprach. Das soll im folgenden geschehen zugleich mit der Mitteilung weiterer Untersuchungen, die ich vor mehreren Jahren meist mit Herrn J. Sussnitzky zusammen über das Verhalten der Hühner gegen Cantharidin angestellt habe.

Von den Versuchstieren der ersten Abhandlung[1]) waren zur Zeit des Abschlusses noch vier am Leben.

1) Ellinger, Arch. f. experiment. Path. u. Pharm. 45, 90.

Igel I (Versuch I), welcher im ganzen 0,143 g Cantharidin subkutan an 12 Tagen erhalten hatte, nahm trotz dieser Schädigungen von dem Anfangsgewicht 405 g (28. Mai) bis auf 920 g (21. September) zu. Bis zu dem am 7. Oktober erfolgten Tode sank dann das Gewicht auf 808 g. Die letzte Injektion war am 25. Juni ausgeführt. Eine Ausscheidung von Eiweiß, die über die im normalen Igelharn fast ausnahmslos auftretenden Spuren hinausging, war vom 19. Juli an nachweisbar. Am 9. September wurden hyaline Cylinder gefunden. Allmählich vermehrte sich die ausgeschiedene Eiweißmenge, neben den hyalinen Cylindern fanden sich auch granulierte und Epithelcylinder sowie vereinzelte rote Blutkörperchen.

Die Sektion ergab makroskopisch keinen charakteristischen Befund. Der mikroskopische Befund in der Niere wird unten im Zusammenhang mit den andern Fällen besprochen werden.

Der Igel, welcher zu Versuch V und VI diente, hatte auf eine intravenöse Injektion von 0,02 g Cantharidin am 11. Juli weder mit Eiweißausscheidung noch mit Gewichtsabnahme reagiert. Er wog anfangs 770 g, am 17. Juli 835 g. Am 18. Juli erhielt er 8 cg, am 19. 4 cg und am 20. 3 cg Cantharidin im Futter, worauf zunächst eine beträchtliche Eiweißauscheidung erfolgte. Diese wurde nach kurzer Remission allmählich immer stärker. Cylinder wurden anfangs gar nicht oder sehr spärlich gefunden, das Gewicht nahm langsam zu und erreichte am 19. September mit 966 g sein Maximum. Von dieser Zeit an wurde die Eiweißausscheidung so stark, daß der Harn bei der Kochprobe im Reagenzglase erstarrte, die hyalinen Zylinder mehrten sich, es traten auch granulierte und Epithelcylinder auf. Am 3. November wurden zuerst rote Blutkörperchen im Harn nachgewiesen, am 8. November starb das Tier, nachdem das Gewicht allmählich auf 650 g gesunken war. Die letzten Tage lag das Tier apathisch, fast aufgerollt, mit ausgestreckten Beinen im Käfig, ohne auf Geräusche zu reagieren.

Sektionsbefund: Hautödeme sind nicht nachweisbar. Fettpolster mäßig entwickelt. Bei Eröffnung der Bauchhöhle fällt die prall gefüllte rot schimmernde Harnblase ins Auge, welche die Därme nach oben gedrängt hat. Der Blase liegt ein Teil des großen Netzes auf, das Netz selbst ist trübe und mit der Blase teils verklebt, teils durch ganz feine Bindegewebsstränge verwachsen. In der Bauchhöhle findet sich wenig blutig gefärbte Flüssigkeit. Das übrige Peritonenm, namentlich die Darmserosa ist blank, spiegelnd. Pleura und Pericard sind frei von Flüssigkeit. In beiden Lungen kleinere und größere Blutungen, die Unterlappen teilweise atelektatisch. Herz fällt durch stark entwickelte Muskulatur des linken Ventrikels auf. Wanddicke 4 mm. — Milz normal. Die Nieren zeigen fleckig bunte Zeichnung nach außen und auf der Schnittfläche. Die Glomeruli springen als deutliche Pünktchen vor. Die Kapsel läßt sich leicht abziehen. Rindensubstanz nicht vermindert. Blasenschleimhaut dunkelrot: Blutungen bis zu Pfennig-größe. In der Blase blutiger trüber Harn mit reichlichem Bodensatz von Epithelien, roten Blutkörperchen, verhältnismäßig wenig Leukocyten und viel krümelige Massen. Hoden normal. Leber zeigt deutliche

Acinizeichnung, etwas gelblich gefleckt. Magen-Darmkanal normal bis auf kleine ältere Blutungen im Magen.

Frisch untersucht zeigt die Niere unter dem Mikroskop sehr starke Verfettung der Epithelien der gewundenen Harnkanälchen, Hyperämie der Glomeruli, um die glomeruli feine Bindegewebsstränge.

Der Igel des Versuchs VIII vom Anfangsgewicht 660 g reagierte auf die gleichen Dosen Cantharidin im Futter, welche vom 8. bis 10. August gereicht wurden, hinsichtlich der Albuminurie etwa ebenso wie der vorige, aber mit stärkerer Gewichtsabnahme. Am 20. August wog er 595 g, von da an nahm er zu, bis er am 1. September das Gewicht 723 g erreichte. Im September hielt die mäßige Ausscheidung von Eiweiß ohne Zylinder an. Das Gewicht schwankte zwischen 720 und 650 g. Im Oktober wurde sehr viel reichlicher Eiweiß ausgeschieden, am 8. Oktober fanden sich zum erstenmale mehrere hyaline Cylinder und einige rote Blutkörperchen. Das Gewicht sank bis Ende Oktober auf 565 g. Im Sediment traten zu den hyalinen Cylindern zahlreiche granulierte und Epithelcylinder, weiße und rote Blutkörperchen hinzu. Am 9. November wog der Igel 500 g; er wurde in einen kalten Kellerraum verbracht, damit er dort den Winterschlaf hielte. Am 7. Dezember wurde er tot gefunden.

Die Sektion ergab außer einer mäßigen Hyperämie der Lungen bis auf den Nierenbefund nichts Anormales. Die Nieren waren bunt gezeichnet. Die Kapsel ließ sich gut abziehen. Im frischen mikroskopischen Präparat fand sich Fett in kleinsten und größeren Tröpfchen in den Epithelien der Tubuli contorti, Bindegewebstreifen um die Glomeruli und vereinzelt Einlagerungen von Kalk.

Der Befund in den mit Alkohol oder Sublimat gehärteten und mit Hämatoxylin-Eosin gefärbten Präparaten von Nierenschnitten war bei allen 3 Versuchstieren ein so ähnlicher, daß es genügt, eine Abbildung zu ihrer Veranschaulichung zu geben. Das Bild stellt ein Präparat von Igel VIII dar, an welchem die pathologischen Veränderungen am ausgeprochensten waren.

Das Epithel der Harnkanälchen namentlich der Rindensubstanz ist zumeist nicht mehr deutlich gegen das Lumen abgegrenzt. Das Protoplasma ist körnig zerfallen, die Kerne sind zum großen Teil nicht mehr gut färbbar. Im Innern der Kanälchen finden sich körnige und schollige Massen. Das Epithel der Glomeruli ist großenteils zerstört, der Kapselraum vielfach mit Exsudat erfüllt. Am Imponierendsten aber sind die Bindegewebszüge, welche die Glomeruli umziehen und das ganze Rindengewebe durchsetzen. Um die Glomeruli finden sich an vielen Stellen Rundzellenanhäufungen, überall zerstreut kleinere Blutungen.

Bei den drei Versuchstieren hat sich also auf der Grundlage der parenchymatösen Entzündung eine chronische indurative Nephritis zu entwickeln begonnen. Daß die parenchymatöse Entzündung das Vorausgehende war, darf wohl aus den früher mitgeteilten mikroskopischen Befunden in den Versuchen II bis IV angenommen werden.

Folgezustände, wie wir sie in der menschlichen Pathologie im

Anschluß an eine chronische indurative Nephritis zu sehen gewohnt sind, haben sich bei den Versuchstieren nicht feststellen lassen. Es sei denn, daß man die einmal beobachtete ungewöhnlich starke Entwicklung der Herzventrikel-Muskulatur so auffassen will. Die Lebensdauer der erkrankten Tiere war zu solchen Beobachtungen auch wohl zu kurz.

Die Bedeutung der erzielten Resultate scheint mir darin zu liegen, daß es meines Wissens zum ersten Male gelungen ist, experimentell einen chronisch-indurativen Entzündungsprozeß in der Niere durch ein Gift zu erzeugen, ohne daß in größeren Zeitabständen das Gift immer wieder von neuem zugeführt wurde wie etwa in den Cantharidinversuchen von Aufrecht[1]) am Kaninchen. Daß das im Organismus zurückgehaltene Cantharidin erst allmählich diese Wirkung ausgeübt habe, ist nicht gerade wahrscheinlich, wenn man bedenkt, daß an den ersten beiden Versuchstagen schon 57 Proz. der eingeführten Menge im Harn wiedergefunden wurden und daß kleinere Dosen wenigstens der normalen Igelniere keinen Schaden tun. Plausibler erscheint es, daß die einmal gesetzte Veränderung der Niere ohne erneute Wirkung des eingeführten Gifts die weiteren anatomischen Veränderungen im Gefolge hat. Wie solche chronische Nephritiden sich aus akuten Schädigungen entwickeln können, hat Ponfick[2]) in seinem Meraner Referat über Morbus Brightii in überaus anschaulicher Weise dargelegt. Ich begnüge mich damit, auf seine Erklärungsversuche hinzuweisen.

Eine gesonderte Besprechung erfordert noch das weitere Schicksal des Igels aus Versuch VI, welcher 45 mg Cantharidin in einer Dosis intravenös erhalten hatte und durch sein gänzliches Wohlbefinden vom 4. Tage nach der Injektion an am schlagendsten die große Resistenz der Igel gegen das Gift bewies.

Dieses Versuchstier zeigte auch in der langen Folgezeit nie Zeichen einer Nierenerkrankung. Der Harn gab bei der Kochprobe nur die geringe Trübung, die der Harn gesunder Igel fast ausnahmslos zeigt, an einzelnen Tagen blieb auch diese aus, Cylinder wurden nie gefunden. Das Gewicht, das am Versuchstage, dem 17. August, 908 g betragen hatte, stieg im September über 1200 g, nahm während des Monates Oktober, in welchem sich die Freßlust der Tiere stets verminderte, auf etwa 1100 g ab und hielt sich mit geringen Schwankungen auf dieser Höhe, bis er am 13. November zum Winterschlaf in die Kälte gesetzt wurde. Leider wurde sein Tod erst einige Tage zu spät (Mitte

1) Aufrecht, Patholog. Mitteilungen. 2. Heft. Magdeburg 1883.
2) Verhandlungen d. deutsch. pathol. Gesellsch. 9, 49.

Dezember) festgestellt, um noch ein einwandfreies Sektionsresultat zu erhalten.

Der Versuch mit der intravenösen Injektion wurde deshalb im Sommer 1907 wiederholt.

Einem Igel von 778 g wurden 4 cg Cantharidin am 26. Juli 1907 in eine Femoralvene eingespritzt. Das Verhalten war im wesentlichen das gleiche wie in dem früheren Versuch mit dem alleinigen Unterschied, daß auch in den ersten auf die Injektion folgenden Tagen keine Cylinder und keine über das Normale hinaus gehende Eiweißtrübung gefunden wurde. Das Gewicht nahm von 750 g am Tage der Injektion mit kleinen Schwankungen bis zum 23. Oktober auf 900 g zu und betrug am 30. November 770 g. An diesem Tage wurde das Tier durch Verbluten aus den Carotiden getötet. Die Sektion sowie die mikroskopische Untersuchung der frischen und der gehärteten Nieren ergab durchaus normale Verhältnisse genau so wie bei einem während der ganzen Beobachtungszeit gleichzeitig gehaltenen Kontrolltier, das kein Cantharidin erhalten hatte.

Die große Resistenz des Igels gegen Cantharidin ist also in diesem Versuche vollauf bestätigt und auch für eine lange Beobachtungszeit (4 Monate) verbürgt.

II. Das Verhalten der Hühner gegen Cantharidin (nach gemeinsam mit J. Sussnitzky angestellten Versuchen).

Das Huhn gilt wie der Igel seit langer Zeit als unempfänglich gegen Cantharidin. Die Untersuchungen am Huhn aber sind noch viel lückenhafter als die älteren Erfahrungen über den Igel. Außer einer Beobachtung aus dem Jahre 1813[1]), wonach „zwei Truthühner wenigstens ein halbes Pfund eben getöteter und in die Sonne zum Trocknen gestellter spanischer Fliegen ohne Nachteil fraßen", wüßte ich nur noch einige Versuche von Radecki[2]) anzuführen. Dieser Autor gibt an, daß Hühner vollständig unempfänglich gegen Cantharidin sind, gleichgültig ob es ihnen durch den Magen, das Unterhautzellgewebe oder eine Vene beigebracht wird. Weder Vergiftungserscheinungen traten ein, noch fand sich eine pathologische Veränderung bei der Sektion.

Wie die folgenden Versuchsberichte zeigen, die im wesentlichen nur einen Auszug aus der Dissertation des Herrn J. Sussnitzki[3])

---

1) Teuffels Magazin der Tierheilkunde, Bd. 1, S. 3, 1813; zitiert nach Radecki.

2) Radecki, Die Cantharidinvergiftung. Inaug. Diss. Dorpat 1866.

3) Sussnitzky, Das Verhalten der Hühner gegen Cantharidin. Ein Beitrag zur Frage von der natürlichen Resistenz der Tiere gegen Gifte. Inaug. Diss. Königsberg 1903.

darstellen, bedarf das von vornherein unwahrscheinliche Urteil Radeckis in vielen Punkten der Berichtigung. Dabei soll dem Autor das Verdienst unbestritten bleiben, daß er die Widerstandsfähigkeit der Hühner gegen das Gift zuerst sicher gestellt hat. Aber noch mehr als für den Igel waren hier eingehendere Beobachtungen und namentlich die Ergänzung der Autopsiebefunde durch mikroskopische Untersuchungen notwendig, um Klarheit zu schaffen. Denn beim Huhn läßt die Diagnose aus den Harnbefunden, welche bei den Säugetieren wichtige Schlüsse auf den Zustand der Nieren zuläßt, fast vollständig im Stich.

Aus dem vorliegenden Versuchsmaterial seien hier 3 Versuche mit subkutaner und einer mit intravenöser Injektion ausführlich wiedergegeben.

Versuch I. Huhn.

Datum	Gewicht in g	Bemerkungen
11. Mai	1790	11 Uhr morgens: 0,02 g subkutan am dorsalen Hals. Abends: lokale Reaktion deutlich.
12. "	1805	12 Uhr mittags: nicht ganz 0,02 g am ventralen Halsteil injiziert.
13. "	1800	—
14. "	1830	7 Uhr abends 0,01 g.
15. "	1815	—
16. "	1735	10 Uhr morgens 0,03 g.
17. "	1815	10 Uhr morgens 0,03. Von diesem Tage an frißt das Huhn kaum mehr, zeigt aber sonst außer Nekrosen an den Injektionsstellen nichts Auffallendes.
18. "	1745	10 Uhr morgens 0,03 g.
19. "	1710	11 Uhr morgens 0,025 g. Abends unter Krämpfen eingegangen.

Sektion: Zahlreiche Nekrosen an den Injektionsstellen. Das Fett resp. Muskelgewebe liegt frei. Darm normal bis auf die Cloake, wo eine hämorrhagische Entzündung nachweisbar. In der frisch untersuchten Niere finden sich zahlreiche kleine Fetttröpfchen in den Epithelien der Harnkanälchen.

Die mikroskopische Untersuchung der in Sublimat gehärteten, mit Hämatoxylin-Eosin gefärbten, sowie der in Flemmingscher Lösung eingelegten Niere ergab folgendes: Reichliche Fettinfiltration der Epithelien der Harnkanälchen; die Kapillaren sind strotzend gefülllt. Zahlreiche Lumina der längs und quer getroffenen Harnkanälchen enthalten scharf kontourierte, hyaline, cylindrische Pfröpfe. Die meisten Harnkanälchen sind mit einer die Farbe des Protoplasma zeigenden, locker liegenden, körnigen teils kernhaltigen, teils kernlosen Masse angefüllt. Die Kontouren der Epithelzellen sind verwaschen, hauptsächlich die dem Lumen zugekehrte Zellgrenze.

Augenfälliger gestalten sich die Vergiftungserscheinungen während des Lebens bei Hähnen namentlich in Folge der Veränderungen am Kamme.

Versuch IV. Hahn, 1746 g schwer.

Am 6. Februar werden um 10 Uhr Vorm. 0,1 g Cantharidin subkutan injiziert. Bald nach der Injektion verfärben sich die Kammspitzen vom hinteren Ende beginnend allmählich bis nach vorne.

7. Februar: Gewicht 1650 g. An der Injektionsstelle ist die Haut nekrotisch und stößt sich ab.

8. Februar: Gewicht 1603. Der Urin enthält neben massenhaften roten und weißen Blutkörperchen zahlreiche verfettete Epithelien.

Bis zum 15. Februar nimmt das Gewicht auf 1388 g ab.

Am 16. Februar beginnen die hinteren Kammspitzen einzutrocknen. Das Gewicht nimmt von da an mit geringen Schwankungen bis zum 9. März auf 1764 g zu. Von der Injektionsstelle stößt sich ein handtellergroßes Stück nekrotischer Haut ab.

13. März: Gewicht 1578 g, 11 Uhr morgens Injektion von 0,1 g Cantharidin. Nach 4 Stunden violette Verfärbung der hinteren Kammspitzen. Der Kamm fühlt sich kalt an. Die Verfärbung nimmt sichtlich zu. Nachmittags kann der Hahn sich nur mühsam aufrecht erhalten. Beim Versuch zu laufen, schleift er das rechte Bein nach. Im Laufe der Nacht tritt der Tod ein.

Die Sektion ergab makroskopisch außer der schon während des Lebens sichtbaren Verfärbung des Kammes und der Eintrocknung der Kammspitzen nur ausgedehnte Blutungen in den Anfangsteilen des Dünn- und Dickdarms.

Mikroskopisch zeigte die Niere frisch starke körnige Trübung und zahlreiche Fettröpfchen innerhalb der Epithelzellen. Am gehärteten Material war folgendes wahrnehmbar. Die Glomerulusschlingen sind prall gefüllt, die Kapillaren erweitert, vereinzelt finden sich auch rote Blutkörperchen in der Glomerulusscheide und im freien Lumen der Harnkanälchen. Zahlreiche Lumina enthalten konzentrisrh geschichtete Kalkkonkremente. In den gewundenen Kanälchen mehr als in den geraden sind hyaline Cylinder vorhanden. An der Bowmanschen Kapsel fällt vielfach eine Verdickung der Wand auf.

Der Versuch zeigt die große Widerstandsfähigkeit des Hahns: Die gewaltige Dosis von 1 Dezigramm Cantharidin bewirkt außer der Veränderung am Kamm und der lokalen Wirkung nur eine hier schon am Harnbefund wahrnehmbare Nierenschädigung und eine erhebliche Gewichtsabnahme. Aber wie die stetige Zunahme vom 12. Tage an zeigt, tritt Erholung ein. Daß die Schädigung indessen noch nicht überwunden ist, beweist der schnelle Tod nach der Einspritzung der zweiten Dosis von 0,1 g nach 35 Tagen, während bei einem intakten Tiere (Versuch V) 0,15 g erst am zweiten Tage den Tod herbeiführten. Der Befund an den Bowmanschen

Kapseln scheint darauf hinzuweisen, daß, ähnlich wie beim Igel, sich allmählich im Anschluß an die einmalige Vergiftung eine chronische Entzündung der Niere entwickelte.

Versuch VI. Hahn. Anfangsgewicht 1770 g.

Datum	Gewicht in g	Bemerkungen
27. Febr.	1770	10 Uhr morgens Injection von 0,05 g Canth. Die hinteren Kammspitzen nehmen eine intensiv blauviolette Färbung an.
28. „	1928	Die Kammspitzen beginnen einzutrocknen. 10 Uhr morgens 0,05 injiciert.
1. März	1820	11 Uhr morgens Injection von 0,1 Canth. Die Verfärbung nimmt an Intensität zu.
2. „	1694	Parese des rechten Beins. Der Kamm zeigt — hauptsächlich in der hinteren Partie — noch stärkere Verfärbung und Eintrocknung der Spitze.
3. „	1644	
4. „	1603	
5. „	1587	Im hintersten Teil des Kammes findet sich eine scharf umschriebene, völlig eingetrocknete, schwarze nekrotische Stelle von etwa 1 cm Breite und 1/2 cm Höhe. 10 Uhr morgens 0,05 g Canth. injiciert. Nach der Injection fühlt sich der Kamm unzweifelhaft kälter als vorher an.
6. „	1578	10 Uhr morgens Injection von 0,1 g Canth. Zunächst keinerlei besonders auffällige Allgemeinerscheinungen. Status um 1 Uhr nachmittags: der Hahn hält sich kaum noch aufrecht; beim Aufstellen knickt er ein und fällt in sich zusammen. Nachmittags 3 Uhr: Es gelingt nicht, den Hahn aufzurichten, immer wieder bricht er zusammen.
7. „	1505	Der Kamm fühlt sich kalt an. Die hinteren Kammspitzen haben eine viel intensivere Dunkelfärbung angenommen. Das Tier liegt in sich zusammengekauert und nimmt keine Nahrung zu sich.
8. „	1428	Der Zustand ist derselbe geblieben.
9. „	1393	
10. „	1372	
11. „	1330	12 Uhr Injection von 0,05 g Canth. Der Hahn hält sich kaum noch aufrecht; wenn man ihn aufzustellen versucht und Gehversuche machen läßt, so setzt er das linke Bein normalerweise an, während er das rechte nachschleppt und den Boden zuerst mit den Krallen berührt.
12. „	1300	
13. „	1236	
14. „	1217	
15. „	1222	
16. „	1188	
17. „	1189	
18. „	1169	
19. „	1180	
20. „	1178	
21. „	1183	12 Uhr Injection von 0,05 g Canth. Aus einer Incisionswunde des Kammes treten nur wenige Bluttropfen aus.
22. „	1180	

In der Nacht ist das Tier eingegangen.

Sektionsbefund: Eine große Absceßhöhle unterminiert die rechte Brustseite vom Brustbein bis zur Halsgegend. Die Höhle ist von einer derben Membran ausgekleidet. Links findet sich ein tiefgehender Absceß in der Gegend des Oberschenkels. Ebenso ist die ganze Rückenseite von einem ausgedehnten Absceß eingenommen. Die Muskulatur ist dürftig und atrophisch, von homogen glasiger Beschaffenheit. Das Blut ist flüssig, nirgends Gerinnsel. Das Herz ist klein und schlaff. Im linken Ventrikel finden sich nahe der Herzspitze drei kleinerbsengroße, braunrote, warzenförmige Wucherungen, die mit ihrer Basis ziemlich festaufsitzend, frei in das Lumen hineinragen. Hoden und Milz außerordentlich reduciert, Leber verkleinert. Niere verkleinert, blaßgrau, auf dem Durchschnitt trübe. Im Darm zahlreiche Blutungen hauptsächlich im Anfangsteil des Dünndarms und im Dickdarm. Der Kamm ist auffallend blutleer; auf dem Durchschnitt durch eine Kammspitze grenzt sich die schwarze, eingetrocknete nekrotische Partie scharf von ihrer Umgebung ab. Die Lunge zeigt auf ihrer Oberfläche und ihrem Durchschnitt normale hellrosa Färbung. Bei Druck auf die Schnittfläche entleert sich eine schaumige seröse Flüssigkeit. Die größeren Bronchien sind mit einer schleimig-eitrigen Flüssigkeit angefüllt.

Die mikroskopische Untersuchung des Herzthrombus ergab, daß er von reichem Bindegewebe durchwachsen ist und zahlreiche gelbe, stark lichtbrechende Pigmentkügelchen enthält.

Mikroskopischer Nierenbefund: Die Epithelien der Harnkanälchen zeigen verkleinerte, z. T. schlecht färbbare Kerne. An einzelnen Stellen ist das Bindegewebe verdickt. Die Capillaren sind strotzend gefüllt. Die Glomeruli erscheinen deutlich verkleinert, die Kapselwand ist stark verdickt und in der Glomerulusscheide finden sich einzelne rote und weiße Blutkörperchen.

Im Versuch VI offenbart sich zum erstenmale bei der Sektion die thrombosierende Wirkung der großen Cantharidindosen in dem Befund eines Herzthrombus. Diese Beobachtung war keine vereinzelte. Auch im Versuch III, dessen Einzelheiten in der Dissertation von Sussnitzki beschrieben sind, fand sich bei der Sektion ein wandständiger Thrombus im rechten Ventrikel, eine Verstopfung zahlreicher Lungengefäße bis in die kleinsten Verzweigungen und das gleiche Bild in der Leber und Milz.

Den Verlauf einer ziemlich acut zum Tode führenden Vergiftung nach intravenöser Injection schildert das folgende Protokoll.

Versuch VII. Hahn: Gewicht 2300 g.

Am 1. August 11 Uhr vormittags werden 0,05 g Cantharidin in die Hauptvene des linken Flügels eingespritzt. Gegen Ende der Operation tritt starkes Oscillieren der gesamten Muskulatur auf. Wenige Minuten nach der Injection sinkt die Temperatur der sich dunkelblau färbenden hinteren Kammspitzen. Sie fühlen sich erheblich kälter an als die rot

aussehenden vorderen. — Das Tier ist sehr matt, schließt oft die Augen, der Kopf ist auf die Brust gesunken, die Atmung ist stark beschleunigt und forciert. Die dunkelviolette Verfärbung dehnt sich allmählich über den ganzen Kamm aus. Um 1 Uhr erfolgt aus der Cloake eine Dejektion von dünnflüssigem Inhalt, der reichlich Schleim und Blut enthält. Der Hahn sieht elend aus und nimmt keine Nahrung zu sich. — 5 Uhr nachm. Das Tier steht unsicher auf den Beinen und läßt die Flügel hängen. In der Nacht erfolgt der Tod.

Die Sektion ergab folgendes: Der Kamm ist in seiner ganzen Ausdehnung dunkelviolett verfärbt. Bei Eröffnung der Bauchhöhle findet sich darin ein freier Erguß einer sanguinolenten, ziemlich putride riechenden Flüssigkeit von etwa 50 ccm Inhalt. Die linke Lunge zeigt an ihrer hinteren, dem Thorax zugekehrten Seite an einer etwa 10 cm langen und 3 cm breiten Stelle, eine schwarze Verfärbung; auf dem Durchschnitt quillt bei dem Druck auf die Bronchien ein zähes, schleimig eitriges Sekret heraus. Die Lungenarterien enthalten teilweise ziemlich feste cylindrische helle und dunkle Blutgerinnsel. Im rechten Vorhof und der Vena cava sup. finden sich zahlreiche, mäßig feuchte dunkelrote Cruorgerinnsel, in denen hellere Partien von Speckhautgerinnsel eingelagert sind. Der Herzbeutel enthält eine vermehrte Menge einer bernsteingelben Flüssigkeit. Am Herzbeutel und Herzmuskel sind zahlreiche subpericardiale und subepicardiale Blutungen sichtbar. Die Magen- und Darmwand zeigt größere und kleinere subperitoneale Blutungen. Auch das perioesophageale Bindegewebe ist von petechialen Blutungen durchsetzt. Die gesamte Brustmuskulatur zeigt sich sowohl in ihren oberflächlichen als auch in ihren tieferen Schichten von Blutpünktchen und Blutstreifen reichlich erfüllt. Die Milz ist beträchtlich vergrößert. Auf der Schnittfläche quillt die dunkle blutreiche Pulpa in die Höhe, Trabekel und Follikel überdeckend. Die Hoden sind normal. Die Nieren erscheinen leicht trübe und zeigen keine weiteren mikroskopisch wahrnehmbaren pathologischen Veränderungen. Die Vene, in welche die Einspritzung erfolgte, zeigt an der Injectionsstelle und zirka 3 cm darüber ein freies Lumen, oberhalb dieser Grenze findet sich ein feines weißes Blutgerinnsel. Am Darm ist eine hämorrhagische Entzündung zu konstatieren; die Schleimhaut ist von punkt- und streifenförmigen Blutungen durchsetzt, sie ist trübe und von einer schleimig-eitrigen Masse bedeckt. Manche Darmabschnitte erscheinen in ihrer ganzen Ausdehnung blauschwarz verfärbt. Die Leber ist auf ihrer Oberfläche spiegelnd, einzelne Stellen zeigen eine pseudomelanotische Pigmentierung. —

Mikroskopisch zeigen die Nieren, abgesehen von einer mäßigen Fettinfiltration der Epithelien der Harnkanälchen keine auffallenden Veränderungen.

Betrachtet man zusammenfassend die Resultate, welche die Versuche an Hühnern und Hähnen geliefert haben, so ergibt sich zunächst eine weitgehende Ähnlichkeit im Verhalten von Huhn und Igel: Erhebliche Resistenz gegen große Dosen bei ausgesprochener Empfänglichkeit für die lokale Wirkung an der

Applikationsstelle. Berechnet man die tödlichen Dosen auf das Kilo Körpergewicht, so zeigt sich der Igel widerstandsfähiger als das Huhn. Eine einmalige subcutane Injektion von 0,075 g pro Kilo Huhn wirkte in 22 Stunden tödlich, während beim Igel einmalige subcutane Injektion von fast 0,15 g erst nach 4 Tagen den Tod herbeiführte. Intravenös beigebracht töteten 5 cg einen Hahn von 2300 g im Laufe eines Tages, während 4,5 cg einen Igel von 900 g keinen dauernden Schaden tun.

Bei beiden Tierarten tritt nach ausreichend großen Dosen die entzündungserregende Wirkung an der Darmschleimhaut und an den Nieren in die Erscheinung, wobei die Nephritis die Tendenz zeigt, in einen chronischen Zustand überzugehen.

Am interessantesten, weil an anderen Versuchstieren nicht beobachtet, erscheinen mir die Thrombenbildungen in den größeren Gefäßen der Brust- und Bauchorgane, im Herzen und in den Gefäßen des Kamms. Daß diese Thrombosen etwa die Folge von sekundären Infektionen waren, darf wohl ausgeschlossen werden. Wenigstens wurde wiederholt und stets mit negativem Resultat in Schnittpräparaten auf Bakterien und Kokken gefärbt.

Die mikroskopische Betrachtung der Kämme ergab stets das gleiche Bild: Die Kämme zeigen eine außerordentlich starke Blutfüllung namentlich der Gefäße, die wegen ihrer Dickwandigkeit wohl als kleinste Arterien anzusprechen sind und zahlreiche Arterienthromben. Hierdurch ist wohl die Nekrose mit der Demarkationslinie hervorgerufen. Auffallend ist, daß sich noch vereinzelte Kerne im nekrotischen Gewebe erhalten haben, ein Umstand, der wohl durch die Mumifikation des Gewebes seine Erklärung findet. Wenn auch das Fehlen der Organisation — denn weder ein Hineinwachsen von Bindegewebe noch von jungen Gefäßen in die Masse ist irgendwo wahrnehmbar — keinen Anhaltspunkt dafür gibt, daß der Prozeß älteren Datums ist, so spricht doch die hyaline Beschaffenheit des Fibrins für ein längeres Bestehen der Thromben. Im einzelnen ähnelt das Aussehen der Thromben in den Arterien außerordentlich Bildern, welche Grünfeld bei Mutterkornvergiftung beschrieben und im IV. Band der Arbeiten aus dem pharmakologischen Institut zu Dorpat reproduziert hat.

Auch der Anblick, welchen die Hahnenkämme im ganzen nach der Cantharidinvergiftung darbieten, gleicht den Bildern, welche Kobert nach der Vergiftung mit Sphacelotoxin beschreibt, so sehr, daß eine Abbildung sich erübrigt. Die Bilder, welche der Arbeit von

A. Grünfeld im VIII. Bd. der Arbeiten des pharmakologischen Instituts zu Dorpat beigegeben sind, können ebenso gut zur Illustration der Cantharidinwirkung dienen. Es liegt deshalb nahe, zu untersuchen, ob die Deutung, welche man den Kammnekrosen nach Mutterkornvergiftung gegeben hat, auch auf unsre Beobachtungen zu übertragen ist, oder ob vielleicht diese zur Aufklärung der Secalewirkungen zu verwerten sind.

Von vielen[1]) wird bis zum heutigen Tage für die Erscheinungen am Hahnenkamme nach Mutterkornvergiftung noch die Erklärung angenommen, welche im Jahre 1883 von Recklinghausen[2]) in den folgenden Worten gab: Durch die Secalevergiftung treten in den Arteriolen der gipfelnden Teile des Hahnenkammes heftige und andauernde Kontraktionen ein, während welcher die hyaline Thrombose gebildet wird, um ihrerseits dann die Blutzufuhr dauernd zu vermindern oder gänzlich abzuschneiden und die Gangrän einzuleiten.

Man geht wohl in der Annahme nicht fehl, daß dieser Erklärungsversuch die anatomischen Befunde mit der damals allgemein angenommenen, wenn auch experimentell nicht genügend begründeten Anschauung in Einklang bringen sollte, daß die Mutterkornextrakte eine Erhöhung des Blutdrucks durch Gefäßkontraktion hervorrufen. Die Versuche Koberts[3]) schienen zunächst diese Auffassung experimentell zu stützen. Aber die Analyse der Mutterkornwirkung durch C. Jacoby[4]) hat gezeigt, daß das Sphacelotoxin, das dieser Autor als eine zwar nicht chemisch aber pharmakodynamisch wohl charakterisierte Substanz ansieht, schon in minimalen Dosen die charakteristische Wirkung am Hahnenkamm hervorruft, ohne daß regelmäßig der Blutdruck andauernd und erheblich erhöht gefunden würde. Ebenso wenig ergab sich die geforderte Coincidenz von nekrotisierender Wirkung und Blutdruckerhöhung infolge eines Spasmus der Gefäße aus einer der übrigen bis zum Jahre 1905 veröffentlichten Arbeiten, wie aus der sorgfältigen kritischen Zusammenstellung von Jolly[5]) hervorgeht.

Trotz dieser Befunde läßt Schmiedeberg die alte Erklärung

---

1) vgl. Schmiedeberg, Grundriß der Pharmakologie, 5. Aufl., S. 295, Leipzig 1906.

2) Handbuch der allgem. Pathologie des Kreislaufs, S. 349.

3) Archiv f. exper. Path. **18**, 316 (1884).

4) Ebenda **39**, 85 (1897).

5) Jolly, Die Einwirkung des Mutterkorns auf die Cirkulation, Preisschrift und Inaug. Diss. Göttingen 1905.

noch mit einigen Einschränkungen gelten. Er schreibt in der neuesten, fünften Auflage seines Grundrisses: „Die Ursache dieser Gangrän ist eine durch Stase des Blutstroms bedingte hyaline Thrombose der feineren Arterienästchen (v. Recklinghausen). Die Stase wird durch eine krampfhafte Kontraktion der Gefäße herbeigeführt, deren Ursache noch nicht ganz klar ist. Es scheint dabei eine direkte Wirkung auf die Gefäßwandungen beteiligt zu sein. Die nächste Folge dieser Gefäßverengerung ist bei akuten Vergiftungen an allen Tierarten eine hochgradige Steigerung des Blutdrucks. Doch ist das Verhalten des letzteren während eines Blutdruckversuches ein wechselndes, was vielleicht davon abhängt, daß die Gefäßkontraktion anfangs keine kontinuierliche ist und erst allmählich, wenigstens in einzelnen Gefäßgebieten, zu einer dauernden wird. Gefäßkontraktion und Stase müssen aber lange genug anhalten, um eine hyaline Gerinnung zustande kommen zu lassen....“

Erst nach dem Erscheinen der fünften Auflage des Schmiedebergschen Grundrisses trat die Mutterkornfrage in ein neues Stadium durch Dales[1]) gründliche Analyse der Mutterkornwirkungen. Dale hat zuerst einwandfrei gleichzeitig die Gefäßverengerung und die dadurch bedingte Blutdruckerhöhung plethysmographisch und im Kymographionversuch festgestellt. Aber sie ist bei Hunden und Katzen nur zu beobachten bei ausgiebiger künstlicher Atmung unter Anwendung von Curare und einem flüchtigen Anaestheticum — worauf gelegentliche Beobachtungen von Kobert und Jacoby schon hingedeutet hatten —, oder nach Ausschaltung von Großhirn und Medulla oblongata. Über die Wirkung am Huhn enthält die Arbeit nur die kurze Bemerkung, daß die druckerhöhende Wirkung ausgesprochen sei. Am Kaninchen und Affen läßt sie sich kaum nachweisen. Dale drückt sich deshalb auch über die stimulierende Wirkung der Mutterkornpräparate auf die Arterien (und den Uterus) sehr zurückhaltend aus, während er die Analyse der bei größeren Dosen beobachteten paralysierenden Wirkungen besser klären konnte.

Somit scheint mir auch nach den Resultaten von Dale die Richtigkeit des Recklinghausenschen Erklärungsversuchs für die Entstehung der Kamm-Nekrosen noch nicht ausreichend gesichert.

Für die Cantharidinvergiftung ist er wohl noch weniger verwertbar. Denn hier ist eine Blutdrucksteigerung bei keinem Tiere beobachtet worden. Die Beobachtungen von Galippe[2]) und Lieb-

1) Journ. of physiology 34, 163 (1906).

2) Galippe, Étude toxiologique sur l'empoisonnement par la cantharidine. Paris 1876.

reich [1]) an cantharidinempfindlichen Tieren habe ich am Kaninchen bestätigt gefunden, und für den Hahn habe ich mich in zwei Kymographion-Versuchen überzeugt, daß trotz intensiver Verfärbung des Kammes bei subcutaner Injektion oder bei tödlicher Vergiftung durch Einspritzung in eine Vene keine Erhöhung des Blutdrucks auftritt.[2])

Für das Cantharidin muß also jedenfalls eine andersartige „Gefäßwirkung" angenommen werden, die in der bei Hähnen beobachteten Intensität bei anderen Tieren noch nicht wahrgenommen wurde. Die Anfangsstadien dieser Wirkung sind von Cornil [3]) am Hunde beobachtet. Er sieht die Nierenaffektion als Teilerscheinung einer Erkrankung an, die sich in den verschiedensten Organen manifestiert. Nach ihm wirkt das Cantharidin in erster Linie auf die Capillarwand, welche den Gefäßinhalt, Plasma, rote und weiße Blutkörperchen austreten läßt; ja das Endothel soll sogar zugrunde gehen. Erst nachher wirkt das Gift auf die Epithelzellen der Schleimhäute und Drüsen ein.

Die entzündungserregende Wirkung also, welche in ihren Anfangsstadien zur therapeutischen Verwendung der spanischen Fliegen Veranlassung gegeben hat, scheint es zu sein, welche in ihren höheren Graden die Erscheinungen am Hahnenkamm und die Thrombosierung größerer Gefäßgebiete herbeiführt.

Ob diese Erklärung auch für die Wirkung des Mutterkorns zutrifft, wage ich, weil es mir an eigenen Erfahrungen fehlt, nicht zu entscheiden. Da aber bei chronischem Verlauf der Sphacelotoxinwirkung ganz so wie nach Cantharidin Blutaustritte in allen inneren Organen berichtet werden, da beim Schwein das Mutterkorn Brandblasen an Ohren und Nase hervorruft, so scheint mir auch für die Mutterkornvergiftung der für das Cantharidin angenommene Erklärungsversuch sehr wohl diskutabel.

Ob er wirklich das Richtige trifft, müssen erst weitere Untersuchungen über die Wirkung von Mutterkornpräparaten auf die morphotischen Elemente des Bluts und der Gefäßwand entscheiden. Die bisherigen Resultate derartiger Studien widersprechen einander, wie ebenfalls Jollys Zusammenstellung zeigt, so sehr, daß keine Schluß-

1) Therapeut. Monatshefte 1891.

2) Versuche an Tieren mit künstlicher Atmung habe ich bisher nicht angestellt, weil eine Einwirkung auf natürliche Atmung sich nach Cantharidin erst in den letzten Stadien bemerkbar macht.

3) Cornil betont ausdrücklich, daß er in den meisten Organen besonders in der Lunge auf der Intima aller kleinsten Arterien und Venen Anhäufungen einer anhaftenden Leukocytenschicht und Endotheldefekte gefunden habe.

folgerungen möglich sind. Wie für viele strittige Punkte in der Lehre von den Mutterkornwirkungen, ist auch für diesen in der Zukunft Klarheit zu erhoffen von der Anwendung eines wirksamen und chemisch reinen Präparats, wie es jetzt in dem von Barger und Carr[1]) dargestellten, von Barger und Dale[2]) pharmakologisch untersuchten Ergotoxin vorzuliegen scheint.

Kehre ich nach diesem Exkurs auf das Gebiet der Mutterkornvergiftung zu den Resultaten der Cantharidinversuche zurück, so scheint mir deren wichtigstes Ergebnis zu sein, daß die Beobachtungen am resistenten Hahn einen Einblick in die höheren Grade der Gefäßwirkung gestattet haben, deren erste Stadien zur therapeutischen Anwendung der Canthariden verwertet werden.

Ob die entzündungserregende und nekrotisierende Wirkung allein die Schädigung und den Tod der vergifteten Tiere bedingt, darüber bringen meine Versuche keine definitive Entscheidung. In der Literatur ist diese Frage verschieden beantwortet worden. Schmiedeberg[3]) schreibt dem Cantharidin eine ähnliche Wirkung auf das Zentralnervensystem zu, wie dem Phenol, Stockvis[4]) dagegen sagt wörtlich: On ne constate aucun symptôme permettant de conclure à une action directe de la cantharidine sur les centres du cerveau, de la moëlle allongée ou de la moëlle épinière.

Pinoy und Densunianu[5]) haben bei Meerschweinchen nach subkutaner Injektion von cantharidinsaurem Kalium anatomische Veränderungen an Ganglienzellen mit der Nisslschen Methode nachweisen können. Da aber Cornil in allen Organen, an den Epithelien aller Schleimhäute, in den Leberzellen Veränderungen fand, so beweist das noch nicht, daß eine besondere Wirkung auf die nervösen Zentralorgane im Sinne Schmiedebergs vorliegt. Noch weniger besagen die ebenfalls von Pinoy und Densunianu vorgenommenen intracerebralen Injektionen. Die Kritik dieser Methode, welche Bruno[6]) und ich[7]) gegeben haben, zeigt, daß sie zur Entscheidung pharmakologischer Fragen wenig geeignet ist.

Die an empfindlichen Tieren beobachteten Vergiftungsbilder scheinen mir Stockvis' Ausspruch zu rechtfertigen und die Beobachtun-

1) Journ. of the Chem. Soc. 91, 337 (1907).
2) Biochemical Journ. 2, 240 (1907) cit. nach Biochem. Centralbl. 6, 406
3) Grundriß der Pharmakologie, S. 350.
4) Leçons de Pharmacotherapie, Haarlem et Paris 1898, S. 26.
5) Compt. rend. d. l. soc. d. biol. 53, 103 (1901).
6) Münch. med. Wochenschr. 1901.
7) Zeitschr. f. Biologie 42, 228.

gen an resistenten Tieren, bei welchen, wie gezeigt wurde, die entzündungserregende Wirkung langsamer und deshalb deutlicher hervortrat, sprechen eher gegen eine direkte Wirkung auf das Zentralnervensystem. Namentlich fehlten sowohl bei den Igeln wie bei den Hühnern alle Reizerscheinungen, die auf eine Erregung von Zentren wie bei Carbolvergiftungen hätten schließen lassen. Die Lähmungen, welche bei einigen Versuchstieren lokalisiert hervortreten, sind zweifellos zum Teil auf lokale Ursachen, Nekrosen oder Abszesse an den betreffenden Gliedmaßen zurückzuführen. Der schließlich eintretende Atemstillstand, die allgemeine Benommenheit und Lähmung der Bewegungsorgane setzen wohl eine spezifische, von der allgemein nekrotisierenden verschiedene Wirkung auf die nervösen Zentralorgane nicht voraus. Es liegt also für diese ein Beweis bisher nicht vor.

In die Ursachen der Resistenz gewähren die Versuche an Hühnern bisher ebenso wenig einen Einblick wie die früheren an Igeln. Für eine Entgiftung auf chemischem Wege spricht auch hier nichts. Aber ich kann sie nicht mit der gleichen Bestimmtheit ausschließen wie beim Igel. In mehreren Versuchen wurde Cantharidin aus den Exkrementen nach der Methode, welche ich früher beim Igelkot angewandt habe, wieder gewonnen. Aber um die Ausscheidung quantitativ zu verfolgen, ist diese Methode nicht ausreichend genau. Ich mußte mich deshalb mit dem qualitativen Nachweis, bezw. mit der Reindarstellung kleiner Quantitäten begnügen. —

Es ist mir zum Schlusse eine angenehme Pflicht, Herrn Prof. M. Askanazy — jetzt in Genf — für die wertvolle Unterstützung mit seinem Rate bei der Beurteilung der Sektionsbefunde und der mikroskopischen Präparate herzlichen Dank auszusprechen.

XXV.

Aus der medizinischen Universitätsklinik zu Greifswald.
Direktor Prof. O. Minkowski.

Über die Hippursäurespaltung durch Bakterien und ihre Bedeutung für den Nachweis von Benzoesäure und Glykokoll im Harne.

Von

Dr. Y. Seo aus Tokio.

Außerordentlich widersprechend sind die Angaben, die sich in der Litteratur über die Bildung der Hippursäure im Organismus des Menschen und der Säugetiere vorfinden, und wir sehen noch bis in die neueste Zeit, wie immer wieder verschiedene Autoren bei anscheinend gleicher Versuchsanordnung zu vollkommen entgegengesetzten Resultaten kommen. Ich brauche nur auf die Untersuchungen von Lewinski[1]) hinzuweisen, der beim Menschen nach Verabreichung von Benzoesäure eine Hippursäureausscheidung bis zu 62,3 g in 24 Stunden gefunden hat, während nach Brugsch[2]) die Fähigkeit der Hippursäurebildung beim Menschen eine sehr viel beschränktere sein sollte. Brugsch fand nach Verabreichung von Benzoesäure eine Hippursäureausscheidung von höchstens 4,4 g in 24 Stunden.

Derartige Verschiedenheiten in den Resultaten können selbstverständlich nur durch Versuchsfehler erklärt werden. Sofern es sich um Mängel der zur quantitativen Bestimmung der Hippursäure angewandten Methoden handelt, so können diese durch Kontrollbestimmungen, durch Nachprüfungen und Vergleiche mit den Resultaten besserer Methoden allenfalls ermittelt werden. Sehr viel bedenklicher ist eine andere Fehlerquelle, weil diese im Einzelfalle in einem sehr verschiedenen und nachträglich nicht kontrollierbaren Grade sich geltend machen kann: das ist die Zersetzbarkeit

1) Lewinski. Dieses Archiv, Bd. 58, S. 396. 1908.

2) Brugsch, Zentralblatt für die gesamte Physiologie und Pathologie des Stoffwechsels, II. Jahrg., Nr. 14, 1907, S. 529.

der Hippursäure durch Fermente und Bakterien. Überblickt man die verschiedenen in der Literatur vorhandenen Mitteilungen, in welchen nicht ausdrücklich auf diese Fehlerquelle Rücksicht genommen ist, so muß es auffallen, daß gerade bei solchen Untersuchungen erhebliche Mengen von Benzoesäure neben der Hippursäure im Harne gefunden wurden, und es liegt daher der Verdacht nahe, daß diese Benzoesäuremengen durch eine nachträgliche Zersetzung der Hippursäure im entleerten Harne entstanden sein konnten. Wenn Minkowski[1]) schon im Jahre 1883 sagen konnte: „Es hat eine eigentümliche Bewandnis mit dieser Eigenschaft der Hippursäure; obgleich längst bekannt, ist sie doch häufig genug zu wenig berücksichtigt worden", so gilt dieser Ausspruch offenbar auch noch für manche neuere Arbeit.

Diese leichte Zersetzbarkeit der Hippursäure ist nicht nur für die Untersuchungen über die Umwandlung der Benzoesäure im Organismus von großer Bedeutung; sie spielt, wie wir sehen werden, auch eine sehr große Rolle bei allen Untersuchungen, die sich mit dem anderen in der Hippursäure enthaltenen Paarling, dem Glykokoll, und namentlich auch mit dem Auftreten dieser Aminosäure im Harne beschäftigen.

Es erschien daher wünschenswert, über die Zersetzung der Hippursäure im Harne näheren Aufschluß zu erhalten. Bei den Untersuchungen, die ich zu diesem Zwecke ausgeführt habe, kam es zunächst darauf an, festzustellen, ob und event. wieviel Benzoesäure präformiert im Harne enthalten ist, und in welchem Verhältnis diese Menge zu der im Harne ausgeschiedenen gepaarten Benzoesäure steht. Da es hierbei nicht von wesentlicher Bedeutung war, ob die gepaarte Benzoesäure nur in Form von Hippursäure oder noch in anderer Form (als Benzoylglycuronsäure) im Harne enthalten war, so konnte ich zur quantitativen Bestimmung der präformierten und gepaarten Benzoesäure anstatt der Schmiedeberg-Bunge'schen Methode, die bei sorgfältigen Arbeiten zwar recht gute Werte gibt, jedoch immerhin etwas umständlich ist, das gleich zu beschreibende, etwas einfachere und für den vorliegenden Zweck genügend exakte Verfahren anwenden:

Wir bestimmten:

1. durch Ausschütteln des eingeengten Harnextractes mit Petroläther die präformierte Benzoesäure,

---

1) Minkowski, Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie, Bd. 17, S. 445, 1883.

2. durch Destillation des Harns mit Schwefelsäure die Gesamtbenzoesäure und berechneten aus beiden die Menge der gepaarten Benzoesäure.

Die Destillation des Harns mit 50 Proz. Schwefelsäure zur Bestimmung des Gesamtbenzoesäuregehaltes hatten auch schon Pfeiffer, Bloch und Riecke[1]) angewandt, jedoch titrierten sie das Destillat und mußten bei ihren Berechnungen einen ziemlich hohen Korrektionsfaktor anwenden, der wie eine Nachprüfung durch Herrn Privatdozenten Dr. S. Weber ergab, die Exaktheit der Bestimmung in Frage stellte, wenn nicht gerade sehr große Hippursäuremengen vorhanden waren. Deshalb versuchte ich die Benzoesäure aus dem nach Pfeiffer hergestellten Destillate durch Wägung zu bestimmen.

Ich ging dabei wie folgt vor:

1. Zur Bestimmung der präformierten Benzoesäure wird der mit kohlensaurem Natrium alkalisch gemachte Urin bis zur Syrupkonsistenz abgedampft und mit Alkohol extrahiert. Der Rückstand des Extraktes in möglichst wenig Wasser aufgenommen, mit Phosphorsäure angesäuert und mit Petroläther wiederholt ausgeschüttelt, bis die letzte Portion des Petroläthers nichts mehr aufnimmt.

2. Die gesamte Benzoesäure erhielt ich folgendermaßen: Die zu untersuchende Harnportion wird mit 45 ccm konzentrierter Schwefelsäure in einen Kolben gebracht und abdestilliert, bis nur noch 95 ccm Flüssigkeit im Kolben übrig sind; dann werden durch ein in den Kolben eingeführtes, bis zum Boden reichendes und mit einem Glashahn verschließbares Trichterrohr 30 ccm Wasser allmählich nachgefüllt und weiter abdestilliert, bis wieder 95 ccm übrig sind. Zufügung und Destillation von je 30 ccm Wasser wird im ganzen 10 mal wiederholt. Das gesamte Destillat wird mit Natriumcarbonat schwach alkalisch gemacht und auf dem Wasserbade bis auf wenige Kubikzentimeter eingeengt, in ein Kölbchen gebracht und mit Phosphorsäure angesäuert, wobei oft schon Benzoesäure ausfällt. Diese wird nun in Petroläther aufgenommen und die Ausschüttelung mit Petroläther so oft wiederholt, bis die letzte Portion des Petroläthers nichts mehr aufnimmt.

Bei der Ausschüttelung mit Petroläther wurde die erste Ätherportion zunächst in ein Kölbchen abgegossen, in welchem sie mit etwas Wasser gewaschen wurde, dann erst in eine Glasschale abgegossen; jede folgende Petrolätherportion wurde unter Verwendung desselben Waschwassers, in demselben Kölbchen gewaschen, so daß ein Verlust an Benzoesäure bei dem Auswaschen vermieden wurde.

Das von mir angewandte Verfahren ergab recht befriedigende Resultate, wie folgende Kontrollbestimmungen zeigten:

1. Aus 300 ccm einer 1 g chemisch reine Hippursäure enthaltenden Lösung habe ich durch die Destillationsmethode als Benzoesäure 0,6911 g (auf Hippursäure berechnet 1,0074) wiederbekommen.

[1]) Pfeiffer, Bloch und Riecke: Mitteilung des landwirtschaftlichen Instituts der Universität Breslau II, 237—293, 1905.

2. Aus 500 ccm eines Urins, in welchem präformierte Benzoesäure nicht nachweisbar war, wurden durch Destillation mit Schwefelsäure erhalten:

0,0302 g Benzoesäure, entsprechend 0,0441 g Hippursäure.

a) 100 ccm von diesem Urin werden mit 0,1 g Hippursäure und 0,05 g Benzoesäure als Natronsalz gelöst versetzt. Nach dem oben beschriebenen Verfahren wurden wiedergewonnen:

0,0442 g ungepaarte Benzoesäure,
0,1229 g Gesamtbenzoesäure.

Zu erwarten waren: 0,1240 g Gesamtbenzoesäure.

b) 250 ccm von demselben Urin werden mit 0,3 g Hippursäure und 0,15 g Benzoesäure versetzt. Es wurden wiedergefunden:

0,1409 g ungepaarte Benzoesäure,
0,3582 g Gesamtbenzoesäure.

Zu erwarten waren: 0,3690 g Gesamtbenzoesäure.

Wie die vorher erwähnten Untersuchungen von Lewinski, in Übereinstimmung mit den Erfahrungen früherer Autoren und meinen eigenen, ergeben haben, findet man im Harne gesunder Menschen, selbst nach Verabfolgung von beträchtlichen Benzoesäuremengen, in der Regel keine ungepaarte Benzoesäure im Harne, wenn man sich durch Vorlage einer genügenden Menge konzentrierter Karbolsäure gegen eine Zersetzung der Hippursäure im entleerten Harne schützt.

Ich prüfte nun zunächst, ob schon beim einfachen Sammeln des 24stündigen Harnes in einem sauberen Gefäße ohne Vorlage von antiseptisch wirkenden Substanzen die Gefahr einer nachträglichen Zersetzung der Hippursäure besteht.

Versuch I.

Zu 350 ccm frisch entleerten Harnes eines Patienten, der an Tabes dorsalis litt, werden 0,5 g Hippursäure in Lösung zugefügt. 100 ccm von diesem Harne werden sofort verabreicht. Ungepaarte Benzoesäure nicht nachweisbar. Nachdem der Harn 24 Stunden bei Zimmertemperatur gestanden, finden sich in 100 ccm dieses Harnes 0,0128 g ungepaarte Benzoesäure.

In einer Harnportion, die unmittelbar nach der Entleerung aus der Blase aufgekocht und 24 Stunden steril aufbewahrt wurde, konnte Benzoesäure nicht nachgewiesen werden.

Daß bei längerem Stehen eines Harnes die Hippursäurespaltung in sehr großem Umfange stattfinden kann, zeigt der folgende Versuch:

Versuch II.

1000 ccm Urin von einem gesunden Menschen werden mit 1,0 g Hippursäure als Natronsalz versetzt und 48 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen, danach ist reichlich ungepaarte Benzoesäure

nachweisbar, die nach der oben beschriebenen Methode bestimmt wurde:

Aus je 200 ccm Harn wurden erhalten:

a) durch Destillation mit Schwefelsäure 0,1426 g Gesamtbenzoesäure,
auf Hippursäure berechnet 0,2082 g,
demnach in der ganzen Harnmenge:
0,7130 Gesamtbenzoesäure, entsprechend 1,041 Hippursäure,

b) ungepaarte Benzoesäure 0,0740 g,
entsprechend 0,1080 g Hippursäure,
demnach in der ganzen Harnmenge:
0,370 g ungepaarte Benzoesäure, entsprechend 0,540 g Hippursäure,

c) nach Schmiedeberg und Bunge:
0,1120 g Hippursäure.

Demnach in der ganzen Harnmenge 0,560 g Hippursäure.

Es war also beim einfachen 48stündigen Stehen ungefähr die Hälfte der Hippursäure gespalten.

Es fragte sich nun, auf welche Ursache diese schon so frühzeitig auftretende Zersetzung der Hippursäure zurückzuführen ist. Von vornherein kamen zwei Möglichkeiten in Betracht:

1. Es konnte in den Harn aus dem Körper ein Ferment übergegangen sein, welches die Fähigkeit besitzt, Hippursäure zu spalten („Histozym" Schmiedeberg[1]), Minkowski[2]).

2. Es konnte sich um die Wirkung von Bakterien handeln: Der Umstand, daß die Zersetzung in dem Harn, der länger gestanden hatte, eine unverhältnismäßig viel stärkere war, sprach von vornherein für diese letztere Möglichkeit. Sie wurde auch durch folgenden Versuch bestätigt.

Versuch III.

1000 ccm Urin wurden mit 2 g Hippursäure als Natronsalz versetzt und in 4 verschiedenen Portionen untersucht

1. sofort,
2. nach Aufkochen und 50 stündigen Stehen in offenem Gefäße,
3. unaufgekocht nach 10 stündigem Stehen an der Luft,
4. nach Zusatz einer alkoholischen Thymollösung in geschlossener Flasche und 50 stündigem Stehen im Brutofen.

In je 100 ccm wurden gefunden:

1) Schmiedeberg, Ueber Spaltungen und Synthesen im Tierkörper. Dieses Archiv, Bd. XIV, S. 371, 1881.

2) Minkowski, Ueber Spaltungen im Tierkörper. Ebenda, Bd. XIV, S. 445, 1882.

	Gesamt-Benzoesäure:	als Hippursäure berechnet:	ungepaarte Benzoesäure:
1. aus frischem Urin	0,1512 g	0,2208 g	0
2. aus dem gekochten Urin	0,1556 g	0,2272 g	0
3. aus dem ungekochten Urin	0,1455 g	0,2124 g	0,1495 g
4. nach Thymolzusatz	0,1473 g	0,2151 g	0

Auch in einer Harnportion, der statt Thymol Chloroform zugefügt war, konnte von ungepaarter Benzoesäure keine Spur nachgewiesen werden.

Das Ergebnis dieses Versuches sprach dafür, daß die Zersetzung der Hippursäure wahrscheinlich durch Bakterien hervorgerufen wurde, deren Keime schon in dem aufgesammelten Harne enthalten waren. Das Fehlen abgespaltener Benzoesäure in dem offen aufbewahrten gekochten Harne bewies, daß nachträglich aus der Luft hineingelangte Keime keine wesentliche Rolle spielten. Das Ausbleiben der Spaltung bei Zusatz von Thymol und Chloroform zeigte, daß eine Enzymwirkung nicht in Betracht kam.

Es war nun von großem Interesse festzustellen, welche Bakterien es eigentlich sind, die die Zersetzung der Hippursäure verursachen.

Zu diesem Zwecke impfte ich zunächst von einem Harn, in dem sich nach dem Stehenlassen freie Benzoesäure nachweisen ließ, auf Nährgelatineplatten. Am nächsten Tage wuchsen sehr viele kleine rundliche Kolonien, wenige, die einen gelben Farbstoff enthielten, und massenhaft farblose. Von den Kolonien beschickte ich 5 Agarröhrchen und prüfte die so gewonnenen Reinkulturen auf ihre Fähigkeit, die Hippursäure im Urin zu spalten:

Zu 500 ccm Urin wurde 1 g Hippursäure als Natronsalz zugefügt, der neutral reagierende Urin alsdann eine halbe Stunde lang gekocht. 5 sterilisierte Kolben werden mit je 100 ccm dieses Urins beschickt, nach erfolgter Abkühlung mit je 1 Öse Bakterien aus je einem Röhrchen geimpft und 24 Stunden im Brutofen stehen gelassen. In jedem Kolben ließ sich alsdann eine bedeutende Menge von freier Benzoesäure nachweisen.

Die nähere Untersuchung der in den Röhren gefundenen Bakterien ergab folgendes:

Einzeln liegende oder zu zweien oder in traubenförmigen Häufchen angeordnete Kokken, die gegen Gram positiv sind; Nährgelatine strumpfartig verflüssigt; auf Nähragar rundlich aufliegende Kolonien. Demnach handelt es sich offenbar um Staphylococcus albus und aureus.

Um ein Urteil über die Intensität der hippursäurespaltenden Wirkung dieser Kokken zu gewinnen, stellte ich folgenden Versuch an.

Versuch IV.

Zu 400 ccm Urin eines gesunden Menschen werden 0,8 g Hippursäure zugefügt; eine Hälfte bei schwach alkalischer, die andere Hälfte bei saurer Reaktion gekocht und von jeder gleiche Teile in je 2 sterile Kolben abgefüllt. Eine alkalische und eine saure Lösung wird mit je einer Öse von Staphylococcus albus, die anderen beiden mit Staphylococcus aureus geimpft. Nach 24 stündigem Stehen im Brutschrank fand sich freie Benzoesäure:

in den Kolben	mit alkalischer Reaktion:	mit saurer Reaktion:
mit Staphy. albus	0,1056 g	0,0931 g
mit Staphy. aureus	0,1017 g	0,0754 g

Demnach war die Intensität der Wirkung beider Staphylococcenarten ziemlich gleich; die alkalische Reaktion begünstigte die Spaltung.

Zur Kontrolle habe ich den Versuch in ganz gleicher Weise mit Reinkulturen von Staphyloc. aureus aus dem hiesigen Hygienischen Institut wiederholt, die Herr Professor Löffler mir gütigst überließ.

Bei der gleichen Versuchsanordnung fand sich nach 24 stündigem Stehen 0,1120 g freie Benzoesäure, nach 47 stündigen Stehen 0,1579 g freie Benzoesäure.

Es ist demnach wahrscheinlich, daß die beim Aufbewahren des Harnes sich einstellende Spaltung der Hippursäure in der Regel durch die weit verbreiteten und im Harne meist enthaltenen Staphylococcen vermittelt wird.

Es erschien nun wünschenswert, festzustellen, ob die Fähigkeit, die Hippursäure zu spalten, auch anderen Bakterien in gleichem Maße zukommt.

Von den von mir bis jetzt geprüften Reinkulturen zeigten nur die Streptococcen ein ähnliches Verhalten, wie die Staphylococcen.

Dagegen erwiesen sich Kulturen von Bakterium coli, Typhus- und Paratyphusbazillen, sowie Bazillus pyocyaneus als nicht imstande, die Hippursäure zu zersetzen.

In dem mit diesen Bakterien geimpften vorher sterilisirten hippursäurehaltigen Harne konnte auch nach mehrtägigem Stehen keine Spur von abgespaltener Benzoesäure nachgewiesen werden.

Es könnte somit die Fähigkeit der Hippursäure zu spalten auch s ein Mittel zur Differenzierung verschiedener Bakrienarten verwertet werden, und es wäre gewiß von Interesse, och weitere Versuche in dieser Richtung anzustellen.

Wenn die bei der Spaltung der Hippursäure entstehende Benzoeure, vermöge ihrer leichteren Nachweisbarkeit, eine brauchbare andhabe zur Beurteilung der Intensität der Spaltungsvorgänge daretet, so ist das andere Spaltungsprodukt der Hippursäure, das lykokoll, vielleicht noch von größerem Interesse, weil sich an in Auftreten verschiedene wichtige Fragen aus dem Gebiete der offwechsellehre knüpfen. Leider ist die quantitative Bestimmung s Glykokolls sehr viel schwieriger.

Die brauchbarsten der bis jetzt bekannten Methoden sind noch die ehandlung mit Naphtalinsulfochlorid (Fischer[1]), Ignatowski[2]), mbden[3]) oder mit Naphtylisocyanat (Neuberg[4])).

Ich prüfte nun zunächst, ob nach Zusatz von Glykokoll die nzugefügte Menge wiedergefunden werden kann.

Versuch V.

Zu 200 ccm normalem Urin werden 0,4 g Glykokoll zugefügt; nn wird mit neutralem Bleiacetat gefüllt und bis 1000 ccm aufgefüllt. 0 ccm des Filtrats mit basischen Bleiacetat ausgefällt, auf 1000 ccm fgefüllt, abfiltriert, 900 ccm des zweiten Filtrats mit Ammoniak ausfällt, nach Auffüllung bis auf 1000 ccm abfiltriert; 900 ccm dieses iltrates mit H_2S entbleit; nach Entfernung des überschüssigen Schwefelasserstoffes wird abfiltriert und mit Wasser nochmals gut gewaschen. as ganze Filtrat wird nun auf 100 ccm eingeengt und in zwei Teile teilt. Aus je einer Hälfte (noch 0,1458 g Glykokoll enthaltend) wird s Glykokoll nach der einen und nach der anderen Methode bestimmt. s wurden gefunden

a) nach der Naphtylisocyanatmethode als Naphtylhydantoinsäure 0,2546 g
entsprechend 0,0788 g Glykokoll,
b) durch die Naphtalinsulfochloridmethode als Naphtalinsulfoglykokoll 0,4363 g
entsprechend 0,1222 g Glykokoll.

---

1) Fischer und Bergell, E. Fischer, Untersuchungen über Aminosäuren, lypeptide und Protein (1889—1906), S. 196.

2) Ignatowski, Zeitschrift für physiol. Chemie, Bd. 42, S. 388.

3) Embden und Reese, Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathogie, Bd. 7, S. 411.

4) Neuberg und Manasse, Berichte der deutschen Chem. Gesellschaft, d. 38, S. 2359.

Die Ausbeute war demnach mit Naphtalinsulfochlorid eine bessere als mit Naphtylisocyanat.

Ich untersuchte nun, ob mittelst dieser Methoden auch eine Entstehung von Glykokoll bei der Spaltung der Hippursäure durch Bakterien nachgewiesen werden könnte.

Zunächst überzeugte ich mich davon, daß aus einem an Hippursäure reichen, unmittelbar nach der Entleerung verarbeiteten Harne durch Schütteln mit Naphtalinsulfochlorid in alkalischer Lösung kein Glykokoll dargestellt werden konnte. Dann stellte ich folgende Versuche an:

Versuch VI.

Der Harn eines Mannes, der 10 g Natr. benzoicum (= 8,47 Benzoesäure) erhalten hatte, wurde im Laufe von 24 Stunden ohne Vorlage von antiseptisch wirkenden Substanzen gesammelt. Die Menge betrug 1500 ccm. In 100 ccm wurde durch Destillation mit Schwefelsäure gefunden 0,5544 g Gesamtbenzoesäure, davon ungepaart 0,0557 g.

600 ccm von diesem Harn wurden sofort auf Glykokoll verarbeitet. Es gelang nicht Glykokoll mit Sicherheit nachzuweisen.

Nachdem der Rest des Harnes noch 3 Tage bei Zimmertemperatur gestanden hatte, waren in 100 ccm 0,376 g ungepaarte Benzoesäure nachweisbar. Es wurden nun wieder 600 ccm auf Glykokoll verarbeitet. Es entstand ein sehr reichlicher Niederschlag bei dem Schütteln mit Naphtalinsulfochlorid, der einer Menge von 0,6321 g Glykokoll entsprach.

Versuch VII.

300 ccm Harn werden mit 1 g Hippursäure als Natriumsalz versetzt, dann durch Kochen sterilisiert. Nach dem Erkalten wird der Harn mit 1 Öse einer Reinkultur von Staphylococcus aureus geimpft, danach bleibt er 48 Stunden im Brutofen stehen. 50 ccm dieses Urins werden zur Bestimmung der freien Benzoesäure und der Rest zur Glykokollbestimmung verwandt. Es werden gefunden:

a) freie Benzoesäure in 50 ccm Urin 0,0618 g,
„ „ „ 300 „ „ 0,3708 g,
b) Glykokoll in 250 ccm Urin 0,0939 g,
„ „ 300 „ „ 0,1122 g.

Demnach unterliegt es keinem Zweifel, daß mit Naphtalinsulfochlorid im Harne nachweisbares Glykokoll durch bakterielle Zersetzung der Hippursäure entstehen kann.

Die Autoren, die sich bis jetzt mit dem Nachweis des Glykokoll im Harn beschäftigt haben (Ignatowski u. andere), haben allerdings schon die Möglichkeit ins Auge gefaßt, daß das Glykokoll aus der Hippursäure des Harns stammen könnte. Sie haben daher empfohlen, zuvor die Hippursäure durch Essigäther zu entfernen.

Aber die Entfernung der Hippursäure schützt nicht gegen die

ehlerquelle, die dadurch gegeben sein kann, daß schon bevor der rin in Arbeit genommen wird, schon beim Ansammeln der 24stün- igen Menge, die Hippursäure durch Bakterien gespalten wird. Ent- rnt man jetzt die noch vorhandene Hippursäure und die ent- andene Benzoesäure mit Essigäther, so kann noch immer das lykokoll zurückbleiben, welches mit der abgespalteten Benzoe- ıure ursprünglich gepaart war. Es bedürfen daher alle bisher ɜmachten Beobachtungen über das Vorkommen von Glykokoll, bei ɜnen auf die Zersetzung der Hippursäure nicht genau geachtet urde, einer erneuten Nachprüfung unter Beachtung der hier be- ındelten Fehlerquelle.

Der Umstand, daß nicht alle Bakterienarten in gleicher Weise e Fähigkeit besitzen, die Hippursäure zu spalten, läßt an die öglichkeit denken, daß man vielleicht das Auftreten ungepaarter ɜnzoesäure im Harne gelegentlich auch diagnostisch ver- erten könnte. Man hat allerdings schon wiederholt auf das Ver- ılten der Hippursäuresynthese und die Ausscheidung ungepaarter ɜnzoesäure im Harne bei fieberhaften Zuständen geachtet. Man ıt dabei aber zunächst nur die Veränderung der intermediären offwechselvorgänge beim Fieber ins Auge gefaßt, und die in der teratur niedergelegten Beobachtungen sind zum Teil einander idersprechend (Weil und Aurep [1]), Kronecker [2])).

Es wäre nun aber denkbar, daß je nach Art der im Organismus irksamen und vielleicht im Harn ausgeschiedenen Bakterien eine ›altung der Hippursäure bei bestimmten Infektionszuständen zu- ınde kommt und bei anderen nicht.

Einige Vorversuche, die ich zu diesem Zwecke angestellt habe, gaben in der Hauptsache negative Resultate. Doch fand ich be- ɜrkenswerterweise in einem Falle, in welchem im Anschluß an ıe Furunkulose ein durch Staphylokokken verursachter paranephri- cher Abszeß aufgetreten war, in dem frisch entleerten, klaren, d sofort verarbeiteten Harn, nach Eingabe von Benzoesäure, eine ɔht unerhebliche Menge ungepaarter Benzoesäure wieder.

Weitere Versuche sollen in dieser Richtung noch angestellt ɜrden.

1) Weyl und Anrep, Ueber die Ausscheidung der Hippursäure und nzoesäure während des Fiebers. Zeitschrift für physologische Chemie, Bd. IV, 169, 1880.

2) Kronecker. Dieses Archiv, Bd. XII, 1882.

XXVI.

Aus der inneren Abteilung und Poliklinik des Augusta-Hospitals zu Berlin. (Direktor: Geh. Med. Rat Prof. Dr. Ewald.)

Ueber einige Beziehungen zwischen Nieren- und Magenkrankheiten.

Von

Dr. Walter Wolff, Oberarzt. und Dr. Alessandro Martinelli, Assistenzarzt.

Die Aufgabe, die wechselseitigen Beziehungen zwischen Erkrankungen verschiedener Organe festzustellen, ist um so schwieriger je mannigfacher die physiologischen Beziehungen der betreffenden Organe untereinander sind. Das mag der Grund sein, warum über den Zusammenhang zwischen Erkrankungen der Niere und des Magens noch so wenig feststeht. Es wird in jedem Lehrbuch erwähnt, daß ein häufiges Symptom bei allen Nierenaffektionen Appetitlosigkeit ist; das Erbrechen steht meist im Vordergrunde der urämischen Erscheinungen, aber genaue Untersuchungen über den Zusammenhang gleichzeitiger Nieren- und Magenaffektionen sind nur wenig angestellt worden. Solche gleichzeitigen Erkrankungen sind durchaus nicht selten. Wir sehen unter unseren klinisch und poliklinisch beobachteten Kranken im Laufe des Jahres eine große Anzahl, bei denen Veränderungen des Magens und Funktionsstörungen der Nieren im weitesten Sinne (Albuminurie) gleichzeitig bestehen. Im allgemeinen findet diese Duplizität aber wenig Beachtung, da es z. B. bei einem Ca. ventriculi ziemlich gleichgültig ist, ob gleichzeitig eine Eiweißausscheidung durch die Niere besteht, und da schwere Nierenaffektionen auch so schwere Allgemeinstörungen zu machen pflegen, daß man den speziellen des Magens kein Gewicht beizulegen pflegt.

Wir müssen hier betonen, daß, wenn wir von „Erkrankungen“ von Niere und Magen im folgenden zu sprechen haben, darunter stets ganz allgemein „Funktionsstörung“ verstanden werden soll.

Gerade die in Betracht kommenden Organe zeigen ja nicht are, einwandsfreie pathologisch-anatomische Veränderungen für ele klinisch beobachtete Erkrankungen, — man denke nur an die thotische Albuminurie oder an die Sekretionsanomalien des Mans — sondern bei ihnen muß noch mehr als sonst der Begriff der ıthologischen Physiologie den der anatomisch nachweisbaren Krankit ergänzen.

Unter dieser Voraussetzung lassen sich die Fälle gleichzeitiger agen- und Nierenaffektionen in verschiedene Rubriken einteilen:

1. Fälle zufälliger gleichzeitiger Erkrankung ohne Beziehung ieinander;

2. Fälle gleichzeitiger Erkrankung der beiden Organe durch eselbe Schädigung. Als solche sind uns einmal Infektionskrankiten bekannt, die schwere Störungen der Magenfunktionen neben eichzeitiger Schädigung der Niere verursachen können (Scharlach, ocken, Cholera, Diphtherie, Sepsis, Erysipel, Syphilis), zweitens Inxikationen (Alkohol, Sublimat, Blei, Lysol usw.);

3. primäre Magenerkrankung mit sekundärer Schädigung der iere. Diese Reihenfolge haben wir beobachtet bei Fällen von Carıom, Achylia gastrica, blutenden Ulcera; und endlich

4. primäre Nierenerkrankung mit sekundärer Schädigung des agens.

Die Fälle ohne Beziehung und diejenigen, die durch gleichzeie Schädigung verursacht sind, bedürfen keiner Erörterung. Allerngs wird es im einzelnen Falle nicht immer ohne weiteres festzullen sein, ob die Infektion oder Intoxikation wirklich eine gleichitige Schädigung darstellt, oder ob nicht das zuerst affizierte Organ kundär das andere in Mitleidenschaft zieht.

Der in der Rubrik 3 ausgedrückte Zusammenhang stellt sich dar, daß die durch ernste Magenleiden bedingte schwere Erhrungsstörung und Anämie auch die Nierenepithelien beteiligt erdurch verlieren diese Zellen ihr physiologisches Differenzierungsrmögen und bekommen eine pathologische Durchlässigkeit für weiß.

Die mannigfaltigsten Zustände fallen unter die Rubrik 4 — pr. N. it sekundären M.-Störungen.

Wir müssen sie wieder in verschiedene Unterabteilungen gliedern:

a) Nephrolithiasis.

Es ist bekannt, daß im Verlaufe der Nierensteinkrankheit die heblichsten gastrointestinalen Störungen auftreten können. Man

muß dabei unterscheiden (Sternberg) zwischen chronischen und akuten Störungen der Magen- (und Darm-) tätigkeit. Estere können mannigfachen Ursprungs, nämlich durch sekundäre Erkrankung des Nierenparenchyms mit ihren Folgen für den Stoffwechsel bedingt sein oder durch mechanische Störungen der Harnentleerung mit folgender Autointoxikation oder durch Infektion der Harnwege. Die akuten Störungen stellen gleichfalls zum Teil Autointoxikationen dar, zum anderen Teil dagegen bilden sie eine besondere Gruppe, nämlich die sogenannte „gastrointestinale Form der Nephrolithiasis", die durch stürmisches Erbrechen, Verhalten von Stuhl und Winden, Meteorismen, lebhafteste Schmerzen im Magen und Darm charakterisiert ist. Die Erklärung für diesen Verlauf der Nephrolithiasis liegt in der Annahme einer „Nervenirradiation" oder, wie andere (Friedr. Hoffmann) meinen, in einem reflektorischen Krampfzustand des Colon und Rectum. Die Schmerzerscheinungen hierbei haben ebenfalls eine doppelte Erklärungsmöglichkeit. Der am Mc. Burneyschen Punkt gefundene Druckschmerz entspricht einem wirklichen Organschmerz, während die Schmerzen am Ende der 10. Rippe, sowie die eigentliche Cardialgie als ein reflektorischer Schmerz nach Art der Headschen Zonen aufgefaßt werden können. Ein Analogon hierzu bieten die Magenkrämpfe bei Cholelithiasis.

Der Zusammenhang ist also hier durch verschiedene Wege gegeben: durch das Blut, bezw. die Lymphwege (Infektion), durch den Stoffwechsel (darauf kommen wir zurück) und durch das Nervensystem.

Neben diesen Zusammenhängen primärer Nieren- und sekundärer Magenaffektionen spielt eine nicht geringe Rollè der durch die mechanischen Verhältnisse bedingte.

Wir kommen damit auf das Gebiet der

b) Enteroptose.

Lange Zeit ist die Senkung, bezw. die abnorme Beweglichkeit der Nieren, speziell der rechten Niere, als eine Krankheit sui generis, die sogenannte Wanderniere, beschrieben worden, und erst durch Glénard wissen wir genauer, daß die Senkung der Niere nur ein Teil einer allgemeinen Lageveränderung im Sinne der Senkung von Bauchorganen zu sein pflegt, und daß, wie alle anderen Organe, auch der Magen eine erhebliche Form- und Lageveränderung erfahren kann, wodurch selbstverständlich seine Funktionen nicht unbedeutend beeinträchtigt werden können. Die Häufigkeit

dieser Erkrankung ist eine so große, daß man versucht ist, die neuerdings als normal beschriebene Senkrechtstellung des Magens, wenn man sie auch als die häufigste anerkennen muß, als eine pathologische, durch Enteroptose bedingte, anzusehen. Die praktische Erfahrung bestätigt uns die Richtigkeit dieser Anschauung. Bei einem außerordentlich großen Prozentsatz unserer poliklinischen Patienten, die uns wegen Magenbeschwerden aufsuchen, stellen wir eine Enteroptose als Grundursache des Leidens fest, und diese Diagnose wird auch ex juvantibus gestützt, da nach Anlegen einer entsprechenden Bandage, bezw. durch eine Mastkur die Beschwerden schnell verschwinden. Eigentlich gehört diese Gruppe nicht in das Gebiet der von Nierenerkrankung abhängigen Magenaffektionen; denn man kann nicht wohl annehmen, daß zuerst die Niere sich lockert, sinkt und dann die übrigen Baucheingeweide, speziell den Magen, nach sich zieht. Vielmehr ist es nach den trefflichen physikalischen Untersuchungen von Mathes sehr einleuchtend, daß die Enteroptose neben der natürlichen Veranlagung durch ein Nachlassen der Thoraxkraft bedingt ist, die normalerweise die Baucheingeweide in die Zwerchfellkuppe hineinaspiriert, sodaß also hier Niere wie Magen von einer gleichzeitigen Schädigung betroffen würden.

Daneben sei aber nicht vergessen, daß auch bei völlig normaler Lage des Magens die „Wanderniere“ allein nennenswerte gastrische Störungen auslösen kann, die zum Teil wohl in das Gebiet der vorhin erwähnten „Nervenirradiation“ gehören, zum anderen Teile vom Centralnervensystem ausgelöst werden.

Die dritte Gruppe der von Nierenstörungen abhängigen Magenanomalien ist die, in welcher der Zusammenhang durch den

c) Körperstoffwechsel

gegeben wird.

Hierher gehört vor allem die Urämie:

Der durch die funktionsunfähigen Nieren nicht oder nicht ausreichend ausgeschiedene Harnstoff und andere Stoffwechselprodukte kommen durch vikariierende Funktion im Magen zur Ausscheidung. Es wird angenommen, daß der Harnstoff oder das im Magen daraus entstehende kohlensaure Ammoniak den bei der Urämie beobachteten Brechreiz veranlaßt, der allerdings wohl teilweise auch von dem vergifteten Centralnervensystem hervorgerufen wird.

Neben diesen schwersten Stoffwechselstörungen gibt es aber auch leichtere, die viel weniger bekannt sind. Auf sie haben wir speziell unser Augenmerk gerichtet.

Während der Magen Harnstoff usw. nur bei schwerer Niereninsufficienz ausscheidet, haben beide Organe normalerweise einen starken Anteil an dem Chlorhaushalt des Organismus. Wie sich dieser bei Erkrankungen der Niere verändert und besonders wie die Veränderung die Magentätigkeit beeinflußt, haben wir an einer Reihe von Fällen untersucht.

Wir wollen im folgenden beschreiben, wie wir unsere Untersuchungen ausgeführt haben, dann unsere Resultate mitteilen, und zum Schluß ihre Übereinstimmung, bezw. Abweichung von Resultaten anderer Autoren kritisch zu würdigen versuchen.

Die Methode unserer Untersuchungen war die folgende:

1. Die Untersuchung des Chlorstoffwechsels dehnte sich auf Mageninhalt, Urin und Stuhlgang aus. Wir glaubten, auf die Untersuchung des Schweißes und Speichels, die außerdem noch am Cl-Stoffwechsel beteiligt sind, verzichten zu können, weil im Speichel der Chlorgehalt ein minimaler und jedenfalls auf den Gesamtchlorstoffwechsel ohne Einfluß ist, und weil der Chlorgehalt des Schweißes nach neueren Feststellungen (Strauß) auch beim Nephritiker, dem Gesunden gegenüber, kaum verändert ist. Immerhin gebrauchten wir die Vorsicht, bei unseren Patienten stets darauf zu achten, daß stärkere Schweißabsonderung an den Untersuchungstagen nicht stattfand.

Auch die Faeces sind in unseren Tabellen nicht mit aufgeführt. Der NaCl-Gehalt der Faeces ist immer — auch in unseren Fällen — fast = 0, und auch ihr Gesamtchlorgehalt schwankte in sehr engen Grenzen.

Wir untersuchten stets die Menge des Chlors in Faeces von 3 × 24 Stunden (die Tagesmenge ist je nach der Reichhaltigkeit der Stuhlentleerung zu variabel) und fanden als weitest differierende Zahlen bei verschiedenen Kranken mit verschiedenen Diäten 0,05 und 0,46 g für diese Zeit. Die hieraus berechnete Tagesmenge ist zu unbedeutend, um den Chlorstoffwechsel zu beeinflussen, es scheint vielmehr der Chlorausfuhr durch die Faeces augenscheinlich keine Bedeutung zuzukommen.

2. Die Untersuchung des Harns fand stets nach der Volhartschen Methode statt.

3. Die Chloride des Magensaftes wurden meist aus dem Inhalte des nüchternen Magens, sowie aus dem nach einer Stunde ausgeheberten Ewaldschen Probefrühstück bestimmt. Wir sind uns klar, daß die hiernach gewonnenen Zahlen keinen Anspruch auf absolute Genauigkeit haben, denn wir kennen ohne genaue Restbestimmung

nicht die genaue Inhaltsmenge des Magens und auch mit dieser nicht die Verdünnung des Magensaftes, da wir nicht wissen, wieviel resorbiert oder durch den Pylorus in das Duodenum befördert worden ist. Auch die Sahlische butryometrische Methode kann uns das nicht einwandsfrei sagen.

Andererseits aber können wir uns in täglichen, überaus zahlreichen Untersuchungen davon überzeugen, daß die Zahlen für die Mageninhaltmenge, wie für die Acidität bei demselben Kranken, sofern nicht in der Art der Krankheit anderes bedingt ist, nach Entnahme des P. F. so geringen Schwankungen unterliegen, daß die von uns gefundenen Zahlen völlig ausreichenden Vergleichswert haben. Wichtig ist nur, daß sowohl die Herausnahme des Mageninhalts wie dessen Untersuchung stets in genau der gleichen Weise erfolgen.

4. Die Untersuchung des Mageninhalts geschah nach der Winter-Hayemschen Methode, da diese gerade die Chloride des Magensaftes am besten berücksichtigt. Die Methode besteht kurz darin, daß man in zwei verschiedenen Proben des Magensaftes durch Zusatz von Natron carbon. und Glühen das vorhandene Chlor fixiert, und zwar in der ersten Probe alles vorhandene Chlor, indem man zuerst das Natr. carbon. zugibt, in der zweiten Probe alles Chlor mit Ausnahme der freien HCl, die man durch Verdampfen entfernt, bevor man das Natr. carbon. hinzugibt. Endlich wird eine dritte Probe des Magensaftes ohne Zusatz geglüht, sodaß man hier nach Zerstörung aller organischen Substanzen nur das anorganische Chlor übrig behält. In allen drei Proben wird das Chlor weiter nach der Volhartschen Methode mit Argent. nitr. und Rodan-Ammonium titriert. Die gefundenen Werte bedeuten:

1. Gesamtchlor = T,
2. Gesamtchlor — freie Salzsäure,
3. fixe Chloride = F.

Subtrabiert man 2 von 1, so erhält man den Wert für freie Salzsäure = H (id. mit L), während die Subtraktion 2—3 den Wert für C = gebundene Salzsäure ergibt.

Um Vergleichswerte zu erhalten, werden alle Zahlen auf Salzsäure umgerechnet.

Neben dieser Winterschen Methode haben wir für die meisten Fälle die Titration der Gesamtacidität = A mit Phenolphthalein und der freien Salzsäure = L mit Dimethylamidoazobenzol vorgenommen, häufig auch die Berechnung der C aus der Titration mit sulfoalizarinsaurem Natrium. Die nach beiden Methoden gefundenen Werte

für L (bezw. H) und C, die ja direkt vergleichbar sind, stimmten nicht völlig überein. Wir haben das Mittel aus ihnen genommen. Die Werte A und T sind nicht direkt vergleichbar, da neben freier und gebundener Salzsäure in T die nicht sauer reagierenden anorganischen Chloride und in A die sauer reagierenden Phosphate enthalten sind. Es erwies sich aber die Differenz zwischen A und T als ziemlich konstant. In den Tabellen sind die Werte für T angeführt.

Um zu sehen, ob dem Grade der Chlorausscheidung durch die Nieren ein bestimmender Einfluß auf die Chlorsekretion durch den Magen zukommt, untersuchten wir zuerst bei drei Nephritikern aus poliklinischer Beobachtung mehrmals den Chlorgehalt der 24stündigen Harnmenge und am selben Tage den Chlorgehalt des Magensaftes nach Ewaldschem P. F. (Poliklinik Nr. 1143, 1226, 1256).

In diesen Fällen ergab sich — die Tabellen sind nicht besonders mitgeteilt —, daß die im Harn ausgeschiedenen Chloride im direkten Verhältnis zum Chlorgehalte des Magensaftes standen, d. h. daß an Tagen hochgradiger Chlorsekretion des Magens gleichzeitig eine stärkere Chlorausscheidung seitens der Nieren bestand und umgekehrt. Die Resultate dieser ersten Untersuchungen schienen uns aber zu sehr von der uns nicht bekannten Zusammensetzung der von den Kranken zu Hause eingenommenen Nahrung abhängig zu sein, um uns weiter zu führen. Wir mußten unsere Untersuchungen bei genau kontrollierter Diät fortsetzen. Für alle unsere weiteren Resultate, die nur an klinisch beobachteten Patienten gewonnen wurden (bis auf den letzten Kranken, der sehr intelligent war, und die ihm gegebenen Vorschriften ganz genau befolgte), waren drei Diätformen die Regel:

1. die gewöhnliche Diät (zweite Form): 70 g Fleisch, 250 g Kartoffeln, 50 g Gemüse, 550 g Weißbrot, 70 g Schinken, 1000 g Milch, 75 g Zucker, etwa 200 g Wasser. Alles nach üblichem Maßstab und Geschmack gesalzen.

2. Dieselbe Diät unter Fortlassung jeglichen nicht in der Nahrung natürlich enthaltenen Kochsalzes.

3. Die gewöhnliche Diät + 10—30 g NaCl.

Wir haben uns in einigen Proben überzeugt, daß der Kochsalzgehalt der gewöhnlichen Diät ein nahezu konstanter ist, jedenfalls ausreichend, um die Fortlassung des Kochsalzes, bezw. die Zuführung von 10—30 gr Kochsalz als erheblichen Unterschied empfinden zu lassen.

Der erste Patient F, dessen Chlorstoffwechsel unter diesen 3 Diätformen untersucht wurde, schien zunächst nierenkrank zu sein; eine leichte Albuminurie verschwand aber nach einigen Tagen so spurlos und zeigte sich niemals mehr wieder, daß wir den Kranken während der Untersuchungszeit als nierengesund auffassen können; auch hatte er, worauf bei allen unseren Patienten geachtet wurde, nicht etwa eine primäre Magenerkrankung.

Tabelle I.

Datum	Diätform	Urinmenge	Ges. Chlor in g	Mittel
28. V.	gewöhnliche	800	9,60	1200 ccm
29. V.		1100	4,95	8,825 g Cl
30. V.		1400	14,00	
31. V.		1500	6,75	
1. VI.	NaCl-arm	1200	5,64	1180 ccm
2. VI.		1000	3,24	4,12 g Cl
3. VI.		1400	4,90	
4. VI.		1200	3,30	
5. VI.		900	3,15	
6. VI.		1400	4,48	
7. VI.	gewöhnliche + 20 g NaCl	1800	6,84	2200 ccm
8. VI.		2200	14,30	16,5 g Cl
9. VI.		2600	19,50	
10. VI.		2500	25,50	
11. VI.		2100	17,85	
12. VI.		1900	15,01	

Wir sehen, daß die Ausscheidung des Chlors durch den Urin vollkommen parallel mit der vermehrten oder verminderten Chloraufnahme in der Nahrung geht. Die mittlere Chlorausscheidung bei gewöhnlicher Diät beträgt 8,8 g; bei kochsalzarmer Diät 4,12 g und bei Zugabe von 20 g Kochsalz zur gewöhnlichen Diät 16,5 g in 24 stündiger Harnmenge. Auffällig ist auch hier schon die Vermehrung der Harnmenge bei kochsalzreicher Diät, eine Tatsache, auf die wir später zurückkommen, und über die wir jetzt nur bemerken wollen, daß sie nicht etwa auf vermehrten Durst und dadurch vermehrte Flüssigkeitsaufnahme zu beziehen ist. Die Flüssigkeitsaufnahme wurde bei unseren Kranken genau kontrolliert.

Bezüglich der Anordnung der verschiedenen Diäten ist noch zu bemerken, daß wir im allgemeinen stets mit der gewöhnlichen Diät anfingen, dann eine kochsalzarme Diät gaben um mit der kochsalzreichen Diät aufzuhören.

Wie wir sehen werden, findet in den meisten Fällen von Nephritis eine gewisse Chlorretention im Körper statt. Wir hätten also bei anderer Reihenfolge der Diäten befürchten müssen, daß die auf die Na-Cl-reiche Diät folgende Periode nicht unbeeinflußt geblieben wäre (vgl. Fall 6 Tabelle VIII und IX).

Tabelle II.
Mageninhalt desselben Kranken.

Datum	Diätform	nüchtern					Probe-Frühstück					
		Menge	T	L	F	Mittel:	Menge	T	L	C	F	Mittel:
28. V.		30	0,164	0,109	0,001	53 ccm	150	0,324	0,208	0,087	0,005	150 ccm
29. V.	gewöhnliche	100	0,219	0,138	0,06	A: 0,187 L: 0,124	200	0,288	0,182	0,073	0,004	A: 0,29 L: 0,196
30. V.		30	0,178	0,127	0,02	C: — F: 0,027	100	0,259	0,197	0,075	?	C: 0,078 F: 0,0045
2.VI.		60	0,110	0,073	Spur	66 ccm	100	0,279	0,164	0,037	0,04	110 ccm
4.VI.	NaCl-arm	60	0,224	0,152	0,04	A: 0,172 L: 0,121	20(?)	0,201	0,124	?	Spuren	A: 0,252 L: 0,172
6.VI.		80	0,182	0,137	0,02	C: — F: 0,03	200	0,277	0,229	0,019	Spuren	C: 0,028 F: 0,04?
8.VI.		30	0,103	0,076	?	37 ccm	100	0,255	0,178	0,036	0,004	70 ccm
10.VI.	gewöhnliche + 20 g NaCl	50	0,173	0,146	0,08	A: 0,113 L: 0,083	40	0,261	0,149	0,047	0,005	A: 0,246 L: 0,159
12.VI.		30	0,062	0,032	?	C: — F: 0,08	60	0,221	0,14	0,041	0,006	C: 0,041 F: 0,005

Resultat: Es ergibt sich kein deutlicher Einfluß der Kochsalzzufuhr auf die Chlorsekretion des Magensaftes. Das Faktum ist interessant für die so oft diskutierte Frage kochsalzhaltiger Brunnen (Homburg, Kissingen) auf die Magensaftsekretion. Es scheint unsere Beobachtung die Anschauung zu unterstützen, daß auf den Magengesunden die Zuführung kochsalzhaltigen Brunnens ohne Einfluß bleibt.

Patient 2. Sch. ebenfalls nierengesund.

Die Untersuchung erstreckte sich nur auf die Cl-Ausfuhr der Nieren:

Tabelle III.

Datum	Diätform	Urinmenge	Ges. Chlor in g	Mittel:
21. V.	gewöhnliche Diät	1820	20,02	16,84 g Chlor
22. V.		1700	15,80	
23. V.		1800	14,70	
24. V.	3 l Milch pro die	2800	6,00	5,26 g Chlor
25. V.		2500	4,80	
27. V.		2450	5,00	

Resultat: Der Verabfolgung sehr kochsalzarmer Kost (3 Liter Milch) entspricht eine starke Herabsetzung auf ein Drittel der ausgeschiedenen Chlormenge. Hier ist die Vermehrung der Urinmenge natürlich auf die mehr genossene Flüssigkeit zu beziehen.

Patient 3. G. 44 J.

Im Anschluß an eine Pneumonie vor 13 Jahren Nierenentzündung. Neuerdings (seit 3 Monaten) akuter Nachschub. $^1/_4$-$1\,^1/_2\,^0/_{00}$ Alb., hyaline Cylinder, einige Leukocyten. Urinmenge leicht vermindert, spez. Gew. normal. Keine Herzhypertrophie.

(Wir erörtern absichtlich nicht die Spezialdiagnose der Nierenentzündung, weil uns in diesen chronischen Fällen die scharfen

Unterscheidungen zwischen parenchymatös und interstitiell nicht berechtigt erscheinen. Meist sind es mehr oder minder gemischte Formen.)

Tabelle IV.

Datum	Diätform	Urinmenge	Ges. Chlor in g	Mittel:
5. XI.	gewöhnliche	600	7,44	750 ccm 7,53 g Cl
6. XI.		600	6,36	
7. XI.		1100	8,80	
9. XI.	NaCl-arme	1000	7,50	975 ccm 7,81 g Cl
10. XI.		900	6,12	
11. XI.		1200	6,48	
12. XI.		1000	8,50	
13. XI.		800	7,50	
14. XI.		950	10,80	
15. XI.	gewöhnliche + 20 g NaCl	1800	10,80	2280 ccm 10,04 g Cl
16. XI.		2400	10,08	
17. XI.		2500	12,50	
18. XI.		2200	9,14	
19. XI.		2000	8,20	
20. XI.		2800	9,52	

Resultat: Der Kranke scheidet bei chlorfreier Diät nicht weniger Chlor aus als bei gewöhnlicher, ein Faktum, das am einfachsten durch eine vorher bestehende Chlorretention zu erklären wäre. Durch das Fortlassen des Chlors und die dadurch bedingte Entlastung der Niere ist es dem kranken Organismus möglich, sich von dem überschüssigen Chlor zu befreien.

Bei kochsalzreicher Diät wird auch bei diesem Kranken die ausgeschiedene Chlormenge vermehrt (Mittel 10,04 g gegen 6,5 bezw. 7,8 bei gewöhnlicher und chlorarmer Diät). Die Vermehrung entspricht aber augenscheinlich nicht der Mehrzufuhr des Kochsalzes, sondern auch hier müssen wir an eine beginnende Chlorretention denken. Ebenso ist wieder die auffällige Vermehrung der Urinmenge bei kochsalzreicher Diät bemerkenswert.

Tabelle V.

Mageninhalt desselben Kranken:

Datum	Diätform	nüchtern					Probe-Frühstück					
		Menge	T	L	F	Mittel	Menge	T	L	C	F	Mittel:
6. XI.	gewöhnliche	5	+	Congo+	—	7,5 ccm	50	0,200	0,030	0,130	0,007	60 ccm
7. XI.		10	+	Congo+	—	A +, L +	70	0,226	0,008	0,167	0,010	A: 0,213 L: 0,019 C: 0,148 F: 0,009
9. XI.	NaCl-arm	—	—	—	—		50	0,211	0,050	0,142	0,001	53 ccm
1. XI.		10	+	Congo+	—	3,3 ccm	70	0,182	0,020	0,113	0,030	A: 0,192 L: 0,033
2. XI.		—	—	—	—	A ±, L ±	40	0,182	0,030	0,131	0,001	C: 0,128 F: 0,011
6. XI.	gewöhnliche + 20 g NaCl	40	+	Congo+	—	57 ccm	120	0,306	0,102	0,131	0,040	132 ccm
8. XI.		60	0,259	0,153	0,07	A: 0,228 L: 0,144	145	0,295	0,149	0,094	0,040	A: 0,296 L: 0,143
0. XI.		70	0,197	0,135	0,04	F: 0,055	130	0,288	0,178	0,073	0,020	C: 0,099 F: 0,033

Resultat: Hier ist der Einfluß der verschiedenen Diätformen in die Augen springend. Während bei gewöhnlicher und chlorarmer Diät der Patient keine oder minimale Mengen Flüssigkeit im nüchternen Magen hat, zeigen sich nach der Zugabe von 20 g Kochsalz erheblichere Quantitäten eines nüchternen Magensaftflusses, das Bild einer Gastrosuccorrhoe tritt auf, und ebenso ist die Quantität des nach dem P. F. ausgeheberten Mageninhaltes, die bei gewöhnlicher und kochsalzfreier Diät ziemlich konstant und auch von annähernd gleichem subnormalen Chlorgehalt ist, bei der kochsalzreichen Diät deutlich vermehrt und der Cl-Gehalt vergrößert.

Sehr deutlich ist ferner, welche Faktoren des Gesamtchlorgehalts an der Vermehrung hauptsächlich beteiligt sind. Während nämlich C und F kaum durch die verschiedenen Diätformen verändert sind, C sogar eher im Sinne einer leichten Abnahme, ist L sehr erheblich vermehrt; an den Tagen gewöhnlicher und chlorarmer Diät war der L-gehalt so gering, daß er auf Congopapier und Toepfersches Reagens kaum eine Reaktion gab, und nur durch die Volhartsche Methode quantitativ zu bestimmen war, bei kochsalzreicher Diät trat deutliche positive Reaktion auf freie Salzsäure mit den genannten Reagentien auf, und die Zahlen wuchsen aus der Hypochlorhydrie zur Euchlorhydrie, selbst Hyperchlorhydrie.

Patient 4: T. Aus der Krankengeschichte ist hervorzuheben, daß der Patient seit 3 Jahren an „Herzkrämpfen" leidet. Patient ist 37 Jahre alt, hat eine leichte Herzvergrößerung und einen leises systolisches Geräusch, dabei starken Eiweißgehalt im Urin (zwischen 3½ und 7 pro mille.) Mikroskopisch viele hyaline, granulierte und mit Leukocyten besetzte Cylinder.

Tabelle VI.

Datum	Diätform	Urinmenge	Ges. Chlor in g	Mittel:
26. XI.	gewöhnliche	800	14,50	900 ccm
27. XI.		1000	12,60	12,7 g Cl
28. XI.		900	11,00	
29. XI.	NaCl-arm	850	14,00	1030 ccm
30. XI.		950	11,60	
31. XI.		1100	16,20	
1. XII.		1000	8,45	11,82 g Cl
2. XII.		1200	12,00	
3. XII.		1100	9,70	
4. XII.	gewöhnliche + 10 g NaCl	1400	12,00	1925 ccm
5. XII.		2000	8,90	
6. XII.		1800	11,00	
7. XII.		2000	12,25	10,36 g Cl
8. XII.		1950	9,78	
9. XII.		2400	8,25	

Resultat: Chlormenge im Urin durch kochsalzfreie Diät nicht vermindert, (Ausgleich der vorher vorhandenen Retention) durch Zugabe von 10 g Kochsalz nicht vermehrt, aber Urinquantität vermehrt.

Tabelle VII.

Mageninhalt desselben Kranken.

...tum	Diätform	nüchtern					Probe-Frühstück					
		Menge	T	L	F	Mittel:	Menge	T	L	C	F	Mittel:
. XI.	gewöhnliche	0	0	0	0		50	0,109	0	0,075	0,001	48 ccm A: 0,106
. XI.		0	—	—	—		45	0,102	0,008	0,071	0	L: 0,004 C: 0,073 F: 0,001
. XII.	NaCl-arm	5	+	—	—	1	50	0,116	0,008	0,101	0	38 ccm A: 0,104
. XII.		0	—	—	—		35	0,087	0	0,074	0,004	L: 0,004 C: 0,084
. XII.		0	—	—	—		30	0,109	0,004	0,076	0,003	F: 0,002
. XII.	gewöhnliche + 10 g NaCl	30	0,146	0,041	0,001	33 ccm	75	0,189	0,052	0,121	0,060	98 ccm A: 0,240
. XII.		30	0,167	0,084	0,28 (?)	A: 0,160	100	0,239	0,140	0,081	0,041	L: 0,093
. XII.		40	0,167	0,021	0,008	L: 0,049 F: 0,093 ?	120	0,292	0,087	0,121	0,048	C: 0,108 F: 0,016

Resultat: Durch kochsalzreiche Diät nüchtern Gastrosuccorrhoe verursacht, nach P. F. Zunahme der Quantität, des Gesamtchlorgehaltes und der freien Salzsäure, geringe Vermehrung der gebundenen Salzsäure und der fixen Chloride.

Patient 5. N. 35 Jahre alt. Seit 2 Monaten krank. Ödem der Unterschenkel. Keine Herzhypertrophie.

Urin: Menge vermindert, spez. Gew. normal, 5‰ Alb.

Sedim.: viele granulierte und Epithelialcylinder, Nierenepithelien, Leukocyten und einige Erythrocyten.

Tabelle VIII.

Datum	Diätform	Urinmenge	Ges Chlor in g
28. bis 30. VI.	Mittel aus 3 Tagen gewöhnl. Diät	600	2,40
2. VII. 3. VII.	gewöhnl. Diät + 20 g NaCl	1600 2600	4,00 6,50

Resultat: Urinmenge wiederum deutlich vermehrt. Chlorgehalt jedenfalls nicht entsprechend der Mehrgabe von NaCl vermehrt.

Tabelle IX.
Mageninhalt desselben Kranken.

Datum	Diätform	nüchtern				Probe-Frühstück				
		Menge	T	L	F	Menge	T	L	C	F
28. VI.	gew. Diät	0	—	—	—	50	0,251	0,124	0,073	0,003
2. VII.	nach 2 Tagen gew. Diät	60	0,284	0,219	0,04	150	0,351	0,237	0,087	0,020
3. VII.	+ 20 g NaCl	500 *)	0,186	0,146	0,03	—	—	—	—	—

*) erbrochen!

Resultat: Durch chlorreiche Diät wieder nüchtern Parasekretion mit hohen Werten freier Salzsäure; nach P. F. Vermehrung von Quantität, Gesamtchlorgehalt und freier Salzsäure. Am dritten Tage tritt nüchtern Erbrechen einer großen Quantität chlorhaltiger Flüssigkeit auf; der Versuch wurde deshalb wegen drohender Urämie abgebrochen. Dieser Versuch lehrt deutlich, wie wichtig es ist, die Patienten erst einer Chlorentziehung zu unterwerfen, ehe man die chlorreiche Diät gibt. Die Nichtinnehaltung dieser Vorschrift störte in diesem Falle den Erfolg.

Patient 6. H. 21 Jahre alt. (Pol. Nr. 2691). Postbeamter.

Vater an „Nervenkrankheit" gestorben, 1 Schwester leidet an Basedow. Als Kind Masern, Scharlach, Diphterie. Seit einigen Wochen Schmerzen im Kreuz, Mattigkeit, Krankheitsgefühl im Anschluß an einen anstrengenden Nachtdienst bei Schneefall. — Leichter doppelseitiger Spitzenkatarrh. Etwas Struma und Exophtalmus, keine erhebliche Tachycardie.

Urin: Alb. ca. 1/2 Proz., Menge normal, wenig Sediment mit vereinzelten hyalinen Cylindern. Keine Herzhypertrophie. — Die Untersuchungen waren Proben aus je einer Woche verschiedener Diät.

Tabelle X.

Datum	Diätform	Urinmenge	Ges. Chlor in g
23. XII.	gewöhnl. Diät	1180	9,2
10. XII.	nur Milch	1100	11,0
14. XII.	gewöhnl. Diät + 10 g NaCl	1650	8,9

Resultat: Durch NaCl in der Nahrung Vermehrung der Urinmenge, aber nicht des ausgeschiedenen Chlors.

Tabelle XI.
Mageninhalt desselben Kranken.

Datum	Diätform	nüchtern				Probe-Frühstück				
		Menge	T	L	F	Menge	T	L	C	F
23. XII.	gew. Diät	30	0,087	0,065	0	50	0,189	0,124	0,041	Spur
10. XII.	nur Milch	10	?	+ (schwach)	?	50	0,148	0,101	0,024	0,003
14. XII.	gew. Diät + 10 g NaCl	50	0,187	0,150	0,046	70	0,262	0,146	0,107	0,204

Resultat: Leichte Gastrosuccorrhoe auch bei chlorarmer Kost, durch größere NaCl-Zufuhr erheblich gesteigert, ebenso durch diese, die an sich schon bestehende gute Chlorrhydrie des Probefrühstücks bedeutend vermehrt.

Fassen wir die Resultate unserer eigenen Untersuchungen zusammen:

1. Beim Nierengesunden wird das in der Nahrung vermehrt gegebene Chlor durch die Nieren ausgeschieden und hat auf den Chlorgehalt des Magensaftes keinen Einfluß. Ebenso wirkt verminderter Chlorgehalt der Nahrung nicht herabsetzend auf den Chlorgehalt des Magensaftes.

2. Beim Nierenkranken, bei dem die Nierenfunktion in bezug auf Chlorausscheidung geschädigt ist, äußert sich Verminderung des Chlorgehaltes der Nahrung nicht sofort in einer Verminderung des Chlorgehaltes im Urin. Es ist vielmehr anzunehmen, daß bei Chlorentziehung der Körper sich zunächst durch Mehrausscheidung von einer gewissen Chlorretention befreit.

3. Vermehrter Chlorgehalt der Nahrung steigert beim Nierenkranken die an sich schwache Chlorsekretion des Magens.

4. Die gesteigerte Chlorsekretion bezieht sich auf den Saft des nüchternen Magens wie nach Probefrühstück und betrifft in beiden Fällen hauptsächlich die freie Salzsäure.

5. Vermehrter Chlorgehalt der Nahrung vermehrt beim Nierengesunden wie auch beim Nierenkranken jedenfalls zuerst die Harnmenge.

Wie verhalten sich nun unsere Resultate zu den Beobachtungen anderer Autoren?

Über das Verhalten der Magenverdauung bei Nierenentzündung hat als Erster Biernacki Experimente angestellt. Ausgehend von der Bemerkung Ewalds (9. Kongreß für Innere Medizin), daß für die Nephritiker eine Gefahr in der Erkrankung des Verdauungsapparates liege, die sich meist mit beginnender Krankheit einstelle, untersuchte Biernacki eine größere Anzahl von Nierenkranken, und fand die Magensaftsekretion bei Nierenentzündung im allgemeinen herabgesetzt, von geringer Abweichung bis zu totalem Verschwinden der freien Salzsäure, ebenso eine starke Verminderung der Verdauungsfermente. Weiter fand Biernacki, daß die Harnmenge und Salzsäuremenge sich in gleicher Richtung bewegten, und zwar steigend oder fallend. Der Grad der Salzsäureverminderung richtete sich nach der Intensität der Nierenerkrankung und nach deren Dauer. Die Motilität war sehr oft beschleunigt.

Als Erklärung für diese Herabsetzung der Magensaftsekretion nimmt Biernacki eine deprimierende Einwirkung der Anhäufung von Stoffwechselprodukten auf die Drüsentätigkeit an, während er für die Hypermotilität zwei Erklärungen gibt:

a) Reizung der motorischen Nervenelemente durch die angehäuften Stoffwechselprodukte,

b) Magenkatarrh. (Bei solchem ist die Hypermotilität auch ohne Nierenstörungen eine häufige Erscheinung und als ein Versuch des Organismus zum Ausgleich der vorhandenen Störung anzusehen; die Speisen sollen schneller als sonst in den Darmkanal gelangen, um dort besser ausgenutzt zu werden, als das im Magen möglich ist, und um keine Gährung im Magen zu machen.) Die Hypermotilität erklärt den häufigen Mangel subjektiver Beschwerden.

Während Biernacki die Anfangserscheinungen des subaciden Katarrhs bei Nephritiden intra vitam beobachten konnte, fand Vierhuff das Auftreten schweren Magenkatarrhs mit Drüsenatrophie bei Nephritiden durch die Autopsie bestätigt.

Ganz neuerdings hat sich Raulot-Lapointe mit der Salzsäuresekretion des Magens bei Nephritiden beschäftigt und folgende Resultate gehabt. Bei akuten Nephritiden bestand Hyposekretion mit Rückkehr zur Norm im Laufe der Heilung. Während dieses Heilungsverlaufes wurde einige Zeit sogar Hyperchlorhydrie beobachtet, die Raulot-Lapointe als Hilfsmittel des Körpers zur Eliminierung des zurückgehaltenen Chlors auffaßt, wozu in dieser Zeit die Nieren allein noch unfähig sind. Bei chronischen Nephritiden bestand, wenn sie mehr parenchymatös waren, konstante Hypochlorhydrie und vermehrte Motilität; wenn sie mehr interstitiell waren, Eu- oder Hyperchlorhydrie. Raulot-Lapointe geht sogar so weit, gewisse Hyperchlorhydrien als Anzeichen latenter chronischer Nephritis aufzufassen.

Wenn wir mit den Beobachtungen dieser Autoren unsere Resultate vergleichen, so finden wir übereinstimmend den Befund von Hypochlorhydrie des Magensaftes, jedenfalls was freie Salzsäure anlangt, bei Nephritiden.

Wir werden gleich sehen, wie wir die von Raulot-Lapointe gemachte Ausnahme für interstitielle Nephritiden zu deuten haben.

Nur in unserem letzten Falle bestand auch bei gewöhnlicher und chlorarmer Kost eine Hyperchlorhydrie, namentlich des nüchternen Magens, die wir wohl als eine gleichzeitig bestehende Sekretionsneurose auffassen müssen. Der ganze Habitus des Patienten mit Anlage zur Basedowschen Krankheit, schwer nervöser Belastung

und sein Beruf als Postbeamter (wir sehen die Neurasthenie fast als eine Berufskrankheit von Postbeamten an) sprechen in diesem Falle für eine isolierte, von der Nierenaffektion unabhängige Neurosis ventriculi.

Während aber Biernacki und Raulot-Lapointe, jener ohne Angabe einer bestimmten Diät, dieser unter ausdrücklicher Hervorhebung der alimentären Chlorentziehung, ihre Untersuchungen anstellten und deshalb die Hypersekretion jedenfalls für parenchymatöse Nephritiden als die Regel ansehen, fanden wir durch die Anwendung unserer verschiedenen Diäten, daß die Magensaftsekretion in erheblichem Maße von der eingeführten Nahrung abhängig ist.

Wir sahen, daß starke NaCl-Gaben per os, während sie beim Nierengesunden die Magensaftsekretion nicht beeinflussen, beim Nierenkranken, der das Cl nicht durch den Harn wieder ausscheiden kann, eine vikariierende Hyperchlorhydrie des Magens hervorrufen. Diese Tatsache wurde schon von Bing an 2 durch gänzliche Achlorurie ausgezeichneten Fällen von Nephritis beobachtet.

So erklärt sich auch der Gegensatz, den Raulot-Lapointe zwischen parenchymatösen und interstitiellen Formen bezüglich der Magensaftsekretion bemerkte. Die von ihm bei interstitiellen Formen gefundene Hyperchlorhydrie scheint uns eben durch Cl-retention bedingt zu sein, zu der interstitielle Nephritiden viel mehr neigen als parenchymatöse (Marischler).

Wir glauben also in bezug auf die Salzsäure-Sekretion des Magens bei Nephritiden sagen zu können, daß sie im allgemeinen herabgesetzt ist, daß dagegen bei Chlorretention eine vikariierende Vermehrung der Salzsäuresekretion eintritt, und daß wir dann sogar erhebliche Hypersekretionen finden können.

In bezug auf die Erklärung der Hyposekretion stimmen wir in der Annahme einer deprimierenden Wirkung der Stoffwechselprodukte auf die Drüsentätigkeit durchaus mit Biernacki überein.

Daß bei der Hypersekretion vorwiegend die freie Salzsäure betroffen ist, erscheint ganz natürlich, wenn man annimmt, daß das dem Blute entzogene Chlor zunächst zur Bindung an Eiweiß verbraucht wird, und daß nur das dazu nicht mehr verwandte überschüssige Chlor in der Form der freien Salzsäure vom Magen ausgeschieden wird. Diese Beobachtung spricht auch für den hohen Wert, der dem Vorhandensein und der Quantität der kombinierten Salzsäure für die Verdauung zuzusprechen ist.

Zur Frage der Hypermotilität möchten wir bemerken, daß wir sie bei unseren Fällen, ehe sie durch größere NaCl-zufuhr beein-

flußt wurden, auch konstatieren konnten (vgl. Tabelle II mit den Tabellen V, VII, IX und XI). Das Zusammentreffen der Hypochlorhydrie mit der Hypermotilität läßt uns die oben zitierte Erklärung für die letztere besonders einleuchtend erscheinen. Sobald der Magensaft höhere Aciditätsgrade erlangt, scheint die Hypermotilität zu verschwinden, wenn auch nicht übersehen werden darf, daß an der dann vermehrten Flüssigkeitsmenge, neben der geringen Motilität, auch ein größerer Saftfluß des Magens beteiligt ist.

Endlich ist noch die Vermehrung der Urinmenge durch das eingeführte Kochsalz zu besprechen. Daß das intern eingeführte Kochsalz beim Nierengesunden stark diuretisch wirkt, haben schon v. Limbeck und Dresser festgestellt. Sie nehmen als Ursache dafür eine direkte Erregung des Wasser sekretorischen Apparates der Niere an. Marischler fand für Nierenkranke die Diurese bei parenchymatösen Formen durch innere Kochsalzgaben stark gestört, bei interstitiellen hingegen gesteigert.

Die Erklärung für die auch von uns beobachtete diuretische Wirkung des Kochsalzes kann auf zweierlei Weise geschehen (daß Vermehrung der getrunkenen Flüssigkeit natürlich zuerst ausgeschlossen werden muß, haben wir schon erwähnt):

Entweder es ist anzunehmen (Stoeltzner), daß die Steigerung der osmotischen Konzentration des Blutes eine Verminderung der extravasculären Gewebeflüssigkeit zur Folge hat, oder man kann die Vermehrung der Urinmenge auf eine Steigerung des Blutdruckes zurückführen. Allerdings fand Loewenstein bei daraufhin unternommenen Versuchen keinen genauen Parallelismus zwischen durch Chlorretention steigendem Kochsalzgehalt und Blutdruck. Das würde vielleicht erklären, weshalb in manchen Fällen eine Urinverminderung beobachtet wird. Strauß nimmt an, daß zunächst die vermehrte Kochsalzzufuhr eine Vermehrung der Urinmenge verursacht und erst später bei starker Insuffizienz der Niere es zu Störungen der Wassersekretion kommt.

Das Verhalten des Pepsins und Labfermentes haben wir in unseren Untersuchungen nicht besonders berücksichtigt. Es wäre interessant, vielleicht mit einer der neueren, gut zu verwertenden Methoden festzustellen, ob etwa der durch Chlorrention bei Nephritiden hervorgerufene stärker acide Magensaft ein auffälliges Mißverhältnis zwischen Säuregrad und Gehalt an Verdauungsfermenten ergibt.

Wir haben mannigfache Zusammenhänge zwischen Störungen der Niere und des Magens gesehen. Wir sahen, daß Magenerkrankungen zu Nierenschädigungen führen können, wie Nierenerkran-

kungen zu solchen des Verdauungstractus. Die von uns speziell beobachtete vermehrte Chlorausscheidung durch den Magen können wir nicht eigentlich als eine Schädigung bezeichnen, sondern müssen in ihr vielmehr das vikariierende Eintreten eines Organs für das andere sehen, ein Hilfsmittel, das die Natur dem Organismus im Kampf mit Krankheiten und durch sie bedingte Funktionsstörungen gegeben hat.

Unserem hochverehrten Chef, Herrn Geh. Med.-Rat Prof. Ewald, sprechen wir für das unserer Arbeit gewidmete Interesse hierdurch unseren ergebensten Dank aus.

Literatur.

1) Biernacki, Über das Verhalten der Magenverdauung bei Nierenentzündung. Berl. klin. Wochenschr. 1891, Nr. 25/26.

2) Bing, 2 Fälle von Nephritis achlorica mit vikariierender Hypersekretion des Magens. Berl. klin. Wochenschr. 1905, S. 1278.

3) Dresser, Über Diurese und ihre Beeinflussung durch pharmakologische Mittel. Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. Bd. XXIX.

4) Hayem, Les évolutions pathologiques de la digestion stomacale. Paris 1907.

5) Kelen, Über die Bedeutung der NaCl-Entziehung bei der Behandlung Nierenkranker. Sammelreferat. Berl. klin. Wochenschr. 1905, S. 513.

6) v. Limbeck, Zur Lehre von der Wirkung der Salze. Vierte Mitteilung Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. Bd. XXV.

7) Loewenstein, Über Beziehungen zwischen Kochsalzhaushalt und Blutdruck bei Nierenkranken. Arch. f. exper. Pathol. und Pharm. 26. VI. 1907.

8) Marischler, Über den Einfluß des Chlornatriums auf die Ausscheidung der kranken Niere. Arch. f. Verdauungskrankheiten. Bd. VII, 1901.

9) Mathes. Über Enteroptose nebst Bemerkungen über die Druckverhältnisse im Abdomen. Arch. f. Gynäkolog. Bd. 77, Heft 2.

10) Raulot-Lapointe, La sécrétion chlorhydrique de l'estomac dans les néphrites. Thèse de Paris 1906.

11) Reissner, Über das Verhalten des Chlors im Magen und die Ursache des Salzsäuremangels beim Magenkrebs. Zeitschr. f. klin. Medicin. Bd. 44.

12) Senator, Die Erkrankungen der Niere. II. Aufl. Wien 1902.

13) Sternberg, Beiträge zur Klinik der Nierensteine, insbesondere ihrer gastrointestinalen Erscheinungen. Wien. klin. Wochenschr. 1901, Nr. 16.

14) Stoeltzner, Chlorstoffwechsel und Nephritis. 77. Naturforscherversammlung. Sektion f. Kinderheilkunde. 27. IX. 1905.

15) Strauß, Zur Frage der NaCl- und Flüssigkeitszufuhr bei Herz- und Nierenkranken. 75. Naturforscherversammlung 1903. Abt. f. innere Medizin. IV. Sitznng.

16) derselbe, Über Nierenentlastung durch Schwitzen. Ver. f. innere Medizin. 20. VI. 1904.

17) Vierhuff. Über Atrophie der Magenschleimhaut bei chron. interstitieller Nephritis. St. Petersb. medic. Wochenschr. 1901, Nr. 38.

XXVII.

Die Wirksamkeit des Trypsins und ein einfaches Mittel zu ihrer Bestimmung.

Von Dr. E. Fuld in Berlin.

Die unter dem obenstehenden Titel erschienene Arbeit von Herrn Groß[1]) gibt mir Anlaß, darauf hinzuweisen, daß der von Herrn Groß beschriebenen Methode das gleiche Prinzip zugrunde liegt, wie der von mir eingeführten Methode der Pepsinbestimmung[2]) mittels Edestins. Auch die Art der Ausführung deckt sich mit der von mir ausgearbeiteten[3]). In beiden Fällen wird eine bei der für die Fermentwirkung günstigen Reaktion klare Eiweißlösung hergestellt und der Fermentwirkung unterworfen, welche beidemal dadurch festgestellt wird, daß nach Neutralisation auf das Auftreten von Trübungen geachtet wird, deren Abwesenheit ein vollständiges Verschwinden des nativen Eiweißkörpers anzeigt. Auch die Berechnung der Wirksamkeit aus der eben genügenden Menge Ferment ist die gleiche.

Selbstverständlich kann man die Trypsinbestimmung auch mittels einer alkalischen Edestinlösung ausführen — die Probe ist sogar sehr empfindlich. Indessen ist es auch ungemein naheliegend sich des billigeren Kaseins zu bedienen und tatsächlich habe ich die Probe in dieser Form bereits ausgearbeitet, bevor ich gemeinsam mit Herrn Levison[4]) meine Pepsinbestimmungsmethode ausführlich veröffentlichte, nämlich bereits im Juli. Von der Veröffentlichung einer besonderen „Kaseinmethode der Trypsinbestimmung" glaubte ich danach füglich Abstand nehmen zu dürfen, um so mehr, als mittels dieser Methode auf Grund mündlicher Mitteilungen von mir sowohl an der zweiten medizinischen Klinik, wie auch an der experimentell-biologischen Abteilung des pathologischen Instituts gearbeitet wird und die betreffenden Autoren bei der Mitteilung ihrer Resultate auf die benutzte Methode hinweisen werden.

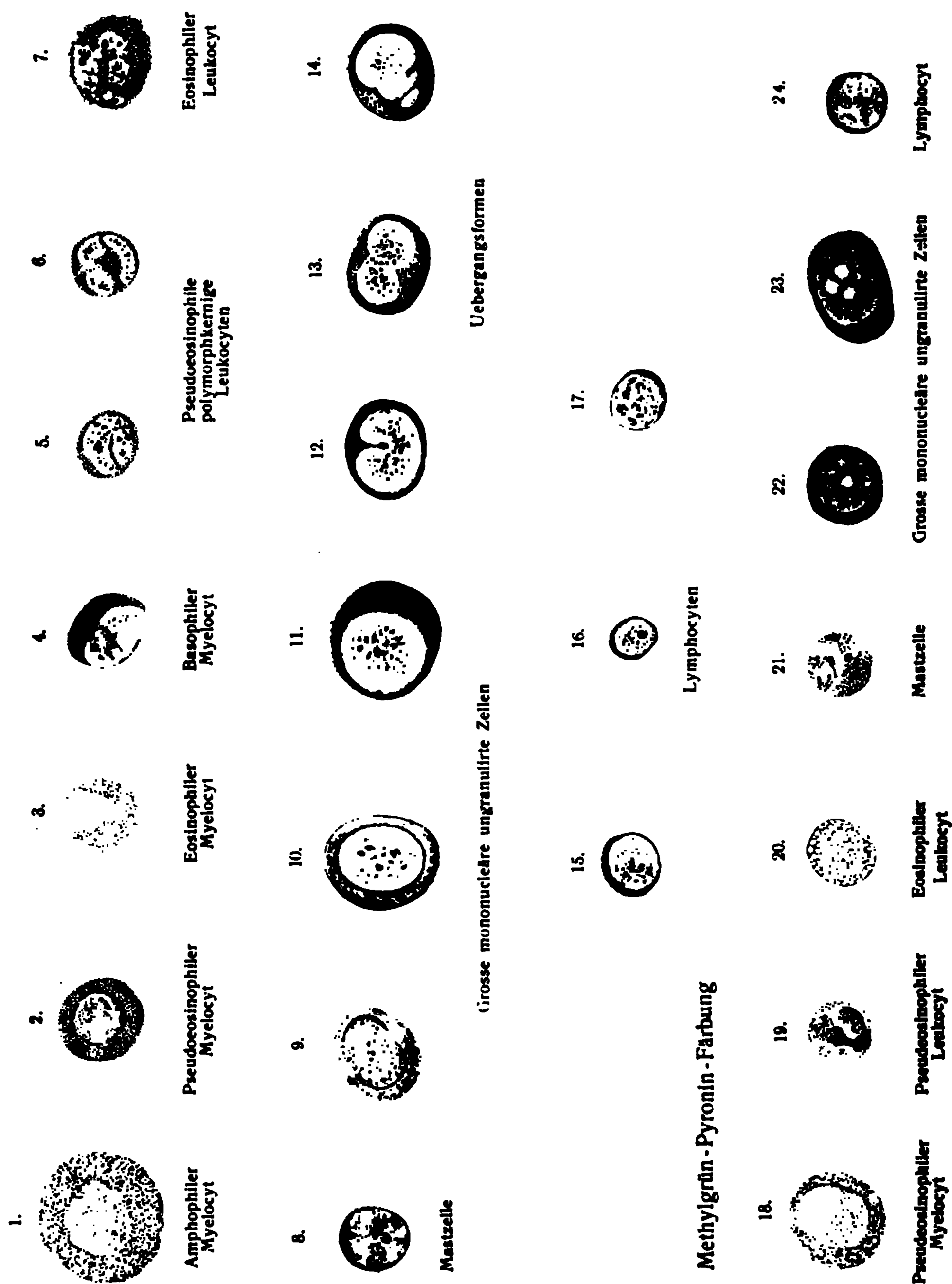
---

1) Dieses Archiv, VII, 157.

2) Auf die von Herrn Groß inzwischen veröffentlichte einfache Methode der Pepsinbestimmung (s. Berliner klinische Wochenschrift 1908, Nr. 13) und ihr Verhältnis zu der meinigen werde ich an anderer Stelle zurückkommen.

3) Verhandlungen des Vereins für innere Medizin, 1907.

4) Biochemische Zeitschrift. 1907.



Gruber.

Verlag von F. C. W. Vogel in Leipzig.

Sinsel & Co., G.m.b.H.

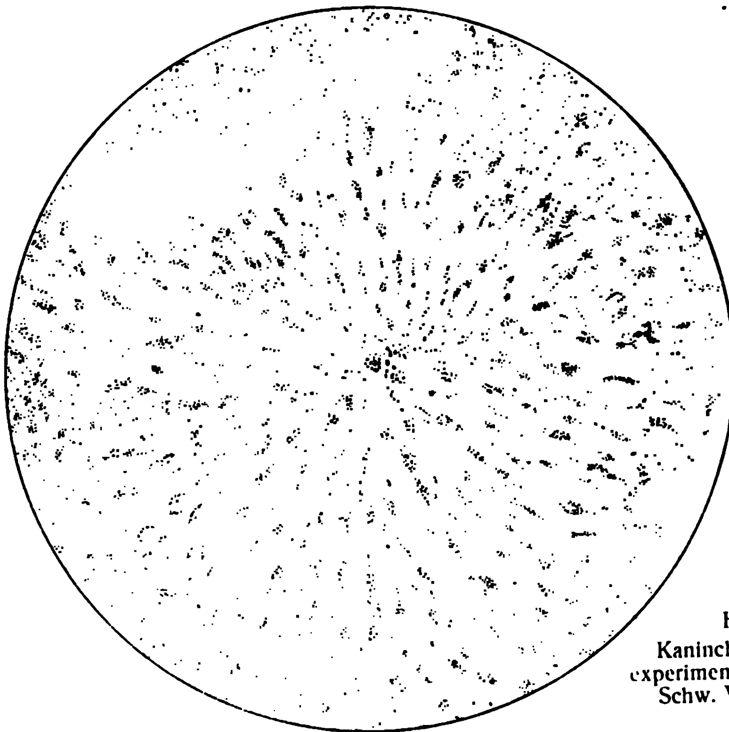


Fig. 1
Kaninchenleber bei experimenteller Anaemie
Schw. Vergrösserg.

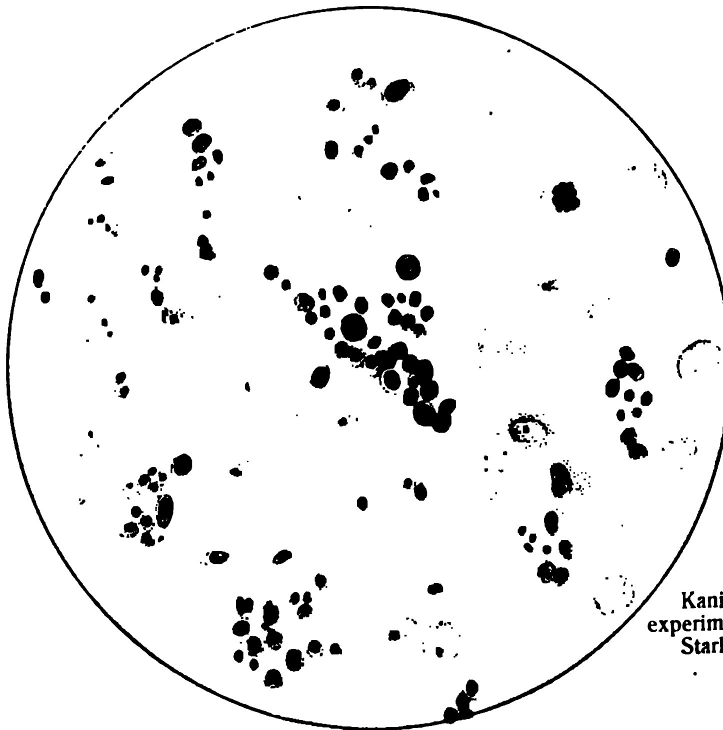


Fig. 2
Kaninchenleber bei experimenteller Anaemie.
Starke Vergrösserg.

Domarus

Verlag von F. C.

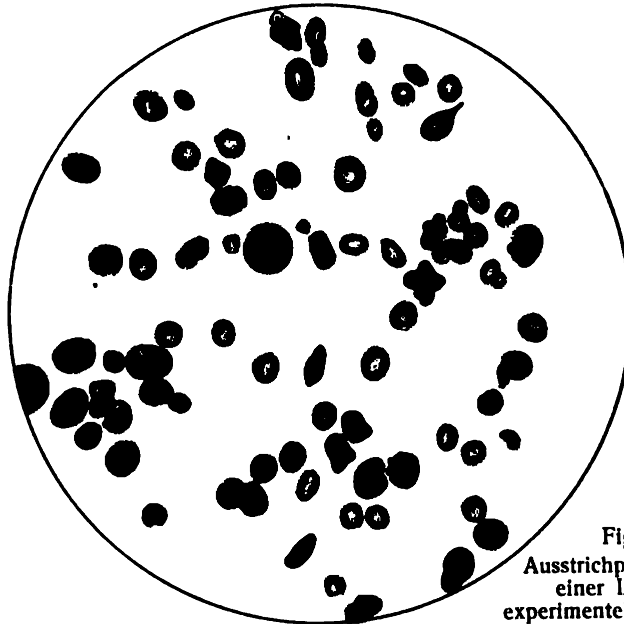


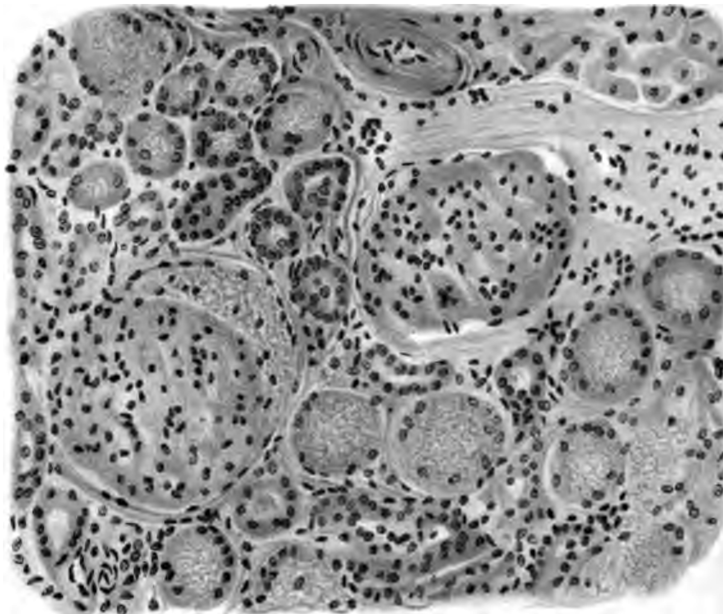
Fig. 3
Ausstrichpräparat von einer Leber bei experimenteller Anaemie.



Fig. 4
Kaninchenmilz bei experimenteller Anaemie

. Leipzig.

Sinsel & Co., G.m.b.H., Leipz



Ellinger.

Verlag von F. C. W. Vogel in Leipzig.

Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena.

